

ÍNDICE

ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS PARA CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E CONFORMAÇÃO EM BOVINOS DA RAÇA LIMOUSINE N. CAROLINO, L. GAMA, J. RODRIGUES e J. BENTO	1
DEGRADABILIDADE IN SITU DA MATÉRIA SECA E FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO DE FENO DE COAST CROSS E DA MATÉRIA SECA DE MILHO EM BÚFALOS RECEBENDO DUAS PROPORÇÕES DE VOLUMOSO:CONCENTRADO D.S.A. ABLAS , R.A.FRANZOLIN NETO, J.C.M.A. NOGUEIRA FILHO, E.A.L.A. TITTO e A.M.F.B. PEREIRA	27
DEGRADABILIDADE IN SITU NO RÚMEN DE ZEBUÍNOS E BUBALINOS SUBMETIDOS A DIETAS COM VOLUMOSOS E CONCENTRADOS J.C.M. NOGUEIRA FILHO, M.E.M. OLIVEIRA, L.R.A. TOLEDO, L. VELLOSO, E.A.L. TITTO, D.S. ABLAS e A.M.F. PEREIRA	37
CONTRIBUTO PARA A CARACTERIZAÇÃO DO CICLO PRODUTIVO DA VACA LEITEIRA EM PORTUGAL A. SILVESTRE, F. PETIM-BATISTA e J. COLAÇO	49
CURVAS DE LACTAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE LEITE, GORDURA E PROTEÍNA: UMA NOVA ABORDAGEM A. SILVESTRE, F. PETIM-BATISTA e J. COLAÇO.....	61
CARACTERIZAÇÃO DE UMA CULTURA DE CÉLULAS PLACENTÁRIAS EM MONOCAMADA PARA SUPORTE DO DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS <i>IN VITRO</i> R.M. PEREIRA, C.C. MARQUES, M.C. BAPTISTA, M.I.VASQUES e A.E.M. HORTA	77
INFLUÊNCIA DO REGIME ALIMENTAR E DO SEXO NA COMPOSIÇÃO DE CARÇAÇAS DE BORREGOS DA RAÇA MERINO BRANCO, A UM MESMO PESO DE CARÇAÇA J.A. SIMÕES, I.A. MENDES, A. SENDIM e R. QUINTELA	89
PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS EXCRETADAS PARA A CIRCULAÇÃO MATERNA: AUXÍLIO NO DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO E NO ESTUDO DA MORTALIDADE EMBRIONÁRIA EM BOVINOS F. MOREIRA DA SILVA, N.M. SOUSA, J.R. FIGUEIREDO e J.F. BECKERS	99

ESTIMATION OF GENETIC AND ENVIRONMENTAL PARAMETER FOR GROWTH AND MORPHOLOGICAL TRAITS IN LIMOUSIN BEEF CATTLE

N. CAROLINO¹, L. GAMA^{1,2}, J. RODRIGUES³ e J. BENTO³

¹ Estação Zootécnica Nacional, Fonte Boa, 2000-763 Vale de Santarém;

carolinonuno@hotmail.com

² Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa; ltgama@hotmail.com

³ Associação de Criadores de Limousine, Edifício Mira, Apartado 33, 7630-909 Odemira

(Aceite para publicação em 1 de Junho de 2002)

ABSTRACT

Performance and type classification records collected in Limousine cattle from 84 farms between 1993 and 1997 were analysed. Data included 6536 pedigree records, 2673 weights adjusted to 120 days (P120), 2707 weights adjusted to 210 days (P210), 2673 average daily gains from birth to 120 days (G120), 2603 average daily gains between 120 and 210 days (G210), and 2570 scores of the following conformation traits: Muscular Development (DM) and Skeletal Development (DS). The animal model used to analyse growth traits (P120, P210, G120 and G210) included the fixed effects of herd, year and month of birth, calf sex and dam's calving number; random effects considered were the direct and maternal genetic effects, and the permanent environmental effect of the dam. Type traits DM and DS were analysed with a similar linear model, also including the fixed effect of age at classification as a covariate. Genetic parameter estimates were obtained with an animal model, through univariate and bivariate analyses, by restricted maximum likelihood (REML), using the MTDFREML package. All growth and type traits were influenced by the fixed effects considered in the models, more pronouncedly for growth traits. In general, phenotypic correlations between all traits considered were positive, moderate to high. Correlations between growth traits were large (between 0.76 and 0.99), with the exception of the correlations P120*G210 and G120*G210, which were moderate (0.28 and 0.29, respectively), while the phenotypic correlation between DM and DS was 0.61. Heritability estimates for direct effects on P120, P210, G120, G210, DM and DS were 0.61, 0.63, 0.62, 0.46, 0.20 and 0.29, respectively. Heritability of maternal effects for the same traits was 0.32, 0.26, 0.33, 0.17, 0.02 and 0.21, while correlations between direct and maternal effects were -0.79, -0.79, -0.80 -0.85, -0.70 and -0.91. These results indicate that, in all traits analysed, heritability is larger for direct than for maternal effects, especially for growth traits. An antagonism was observed between direct and maternal effects, and permanent environmental effects of the

dam were small (between 0 and 8% of the phenotypic variance). Genetic correlations between direct effects and between maternal effects for different traits were, in general, positive and high. Correlations between direct and maternal effects for different traits were all negative, confirming the antagonism among these two components of growth and conformation, even when evaluated at different phases of development.

Key-Words: growth / genetic parameters / Limousin / morphology

ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS PARA CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E CONFORMAÇÃO EM BOVINOS DA RAÇA LIMOUSINE

RESUMO

Foram analisados dados de performances e avaliações morfológicas da raça bovina Limousine, recolhidos em 84 explorações, entre 1993 e 1997, incluindo 6536 registos de genealogias, 2673 pesos ajustados aos 120 dias (P120), 2707 pesos ajustados aos 210 dias (P210), 2673 ganhos médios diários entre o nascimento e os 120 dias (G120), 2603 ganhos médios diários entre os 120 dias e os 210 dias (G210) e 2570 avaliações das características de conformação Desenvolvimento Muscular (DM) e Desenvolvimento Esquelético (DS). O modelo animal utilizado na análise das características de crescimento (P120, P210, G120 e G210) incluiu os efeitos fixos da exploração, ano e mês de nascimento, sexo do vitelo e número do parto da mãe; como efeitos aleatórios foram considerados os valores genéticos directo e materno e o efeito ambiental permanente da mãe. As características de conformação DM e DS foram analisadas com um modelo semelhante ao anterior, com a diferença de neste se incluir o efeito linear da idade à classificação como efeito fixo. As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas por máxima verosimilhança restrita (REML) com um modelo animal, utilizando-se para o efeito o MTDFREML; as correlações entre diferentes características foram obtidas em análises bivariadas com recurso ao mesmo programa. Todas as características de crescimento e conformação foram influenciadas pelos efeitos fixos considerados nos respectivos modelos, ainda que de uma forma mais reduzida nas características de conformação. De um modo geral, os valores obtidos para as correlações fenotípicas foram positivos, moderados a elevados. As características de crescimento apresentaram-se altamente correlacionadas entre si (correlações entre 0.76 e 0.99), com a excepção das correlações P120*G210 e G120*G210, que foram moderadas (0.28 e 0.29, respectivamente). A correlação fenotípica entre o DM e DS foi de 0.61. As estimativas das heritabilidades obtidas para os efeitos directos das características P120, P210, G120, G210, DM e DS, foram de 0.61, 0.63, 0.62, 0.46, 0.20 e 0.29, respectivamente. As heritabilidades para os efeitos maternos nas mesmas características foram de 0.32, 0.26, 0.33, 0.17, 0.02, 0.21, e as correlações entre efeitos directos e efeitos

maternos foram de -0.79, -0.79, -0.80, -0.85, -0.70 e -0.91. Estes resultados demonstram que, em todas as características estudadas, a heritabilidade dos efeitos directos é superior à dos efeitos maternos, com maior evidência nas características de crescimento. Observou-se um antagonismo entre os efeitos directos e os efeitos maternos, e a influência ambiental maternal permanente foi reduzida (entre 0 e 8 % da variância fenotípica). As correlações genéticas entre os efeitos directos ou entre os efeitos maternos para diferentes características foram, de um modo geral, elevadas e positivas. As correlações genéticas entre efeitos directos e maternos de diferentes características foram todas negativas, confirmando-se o antagonismo entre estes dois componentes do crescimento e da conformação, mesmo quando estimados em diferentes fases da vida dos animais.

Palavras-Chave: conformação / crescimento / Limousine / parâmetros genéticos

INTRODUÇÃO

O peso ao desmame, assim como os pesos a idades fixas durante a vida de um indivíduo, são características de elevada importância económica e biológica na produção de bovinos de carne (e Fitzhugh, 1976; Dickerson, 1978). O peso dos vitelos é bastante importante para os criadores, e frequentemente utilizado como indicador do potencial de crescimento do vitelo e da capacidade maternal da vaca (Woodward *et al.*, 1989).

A escolha adequada dos animais de substituição é um dos factores mais importantes para a eficiência de um programa de melhoramento sendo recomendável a selecção pelo valor genético estimado, e a eficácia desta escolha (ou o sucesso com se seleccionam os animais), depende da precisão com que se estimam os valores genéticos respectivos.

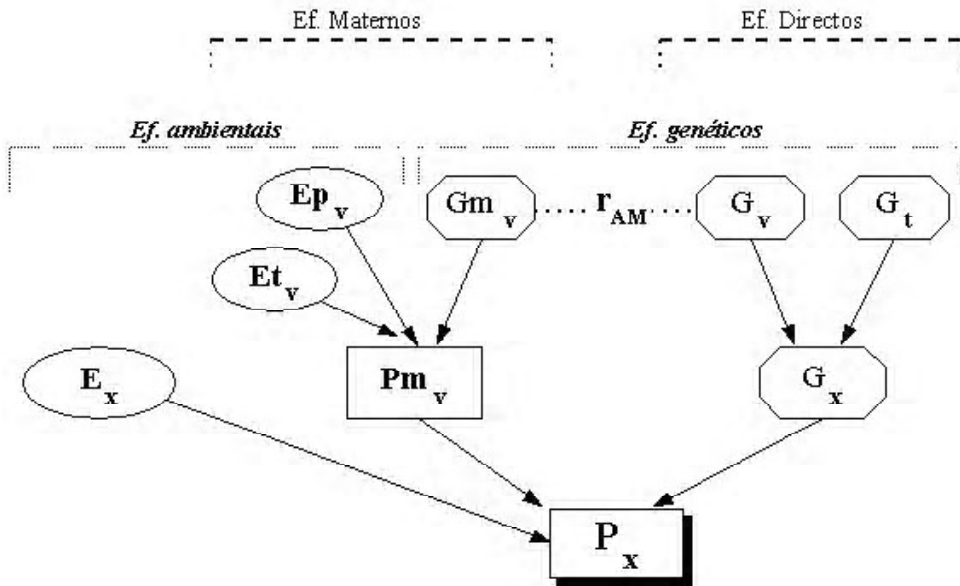
Nos bovinos de carne, a selecção dos animais pelas suas performances de desmame pode ser problemática, porque inclui a influência directa dos genes do próprio vitelo e os efeitos maternos, o que em princípio pode complicar essa escolha e a evolução genética esperada.

Os efeitos maternos na performance de desmame de uma cria resultam das características maternas da fêmea, devidas quer ao seu património genético, quer aos efeitos ambientais a que está sujeita (Figura 1). Os efeitos ambientais maternos podem decompor-se em duas influências distintas:

1) Os factores não genéticos que afectam a performance da mãe durante uma determinada gestação e lactação (como por exemplo o manejo alimentar), conhecidos como efeito ambiental temporário (E_t).

2) O nível ambiental a que a mãe foi sujeita durante o seu crescimento ou

recria, incluindo as condições de alimentação e manejo, ou qualquer outro evento durante a vida reprodutiva, que possa influenciar o seu desempenho como mãe ao longo de toda a vida, considerado como um efeito ambiental permanente (E_{pv}).



P_x : Fenótipo do indivíduo x

G_x : Valor genético directo do indivíduo x

E_x : Efeitos ambientais no indivíduo x

P_{m_v} : Influência materna da mãe v

E_{t_v} : Efeito ambiental temporário da mãe v

E_{p_v} : Efeito ambiental permanente da mãe v

G_{m_v} : Efeito genético materno da mãe v

G_v : Efeito genético directo da mãe v

G_t : Efeito genético directo do pai t

r_{AM} : Correlação entre os efeitos genéticos directos e os efeitos genéticos maternos

Figura 1. Componentes da performance de desmame em bovinos de carne.

Relativamente à performance do vitelo, os efeitos maternos (P_{m_v}) podem ser considerados como efeitos ambientais que condicionam a expressão do potencial genético directo do vitelo. Contudo, como os efeitos maternos podem, em parte, ser de origem genética, poderá haver uma correlação genética (r_{AM}) entre os efeitos genéticos maternos (G_{m_v}) e os efeitos genéticos directos (G_v).

Se esta correlação for negativa, isto significa que uma fêmea que transmite bom potencial genético para o crescimento tende a ter um mau potencial genético para características maternas, e vice-versa.

Em termos de efeitos ambientais, certos factores, tais como o efeito da exploração, manejo, ano e mês de parto, etc., apresentam diferentes níveis de influência na expressão fenotípica de uma característica. Como o que um reprodutor transmite aos seus descendentes é apenas parte do seu património genético, e não os efeitos ambientais a que esteve sujeito durante o seu crescimento (E_x), o objectivo duma avaliação genética é, na medida do possível, separar os componentes genéticos dos ambientais, de modo a poder-se estimar com precisão aceitável o que cada indivíduo poderá efectivamente transmitir aos seus descendentes. De outro modo, os valores genéticos serão distorcidos ou, se a selecção for apenas fenotípica, poder-se-á incorrer numa selecção de animais geneticamente inferiores, o que diminui o progresso genético normalmente desejado e esperado.

A escolha de um modelo apropriado para a análise de determinada característica sujeita aos efeitos directos e maternos poderá ser complicada, porque o modelo deverá representar as particularidades biológicas da característica em questão e ter aplicabilidade (Willham, 1972). Com base nas performances e no grau de parentesco entre animais, pode construir-se um modelo que permita estimar os diversos componentes da variância fenotípica. O modelo descrito por Willham (1963) permite equacionar a performance de um indivíduo com os componentes respectivos, numa expressão conhecida como heritabilidade total (h_T^2):

$$h_T^2 = (\sigma_A^2 + .5\sigma_M^2 + 1.5\sigma_{AM}) / \sigma_P^2$$

em que, σ_A^2 , σ_M^2 e σ_P^2 representam as variâncias genética directa, genética materna e fenotípica, respectivamente, e σ_{AM} a covariância entre efeitos genéticos directos e maternos. Verifica-se assim, a importância do sinal (positivo ou negativo) da covariância entre os efeitos directos e maternos (σ_{AM}) para o valor calculado da heritabilidade total.

O progresso genético do peso ao desmame pode obter-se por melhoramento de qualquer daqueles dois componentes, isto é, do que está subjacente ao potencial genético de crescimento do próprio vitelo (efeitos directos) e da capacidade materna (efeitos maternos). No entanto, a relação existente entre estes dois efeitos (directos e maternos) é determinante para a eficácia da selecção

já que, se a correlação entre eles for negativa, o progresso realizado num deles pode ser condicionado pela resposta negativa no outro (Van Vleck, 1970; Ménissier, 1976; Van Vleck *et al.*, 1977; Baker, 1980; Benyshek *et al.*, 1988; Cantet *et al.*, 1988; Meyer *et al.*, 1991; Gama *et al.*, 1991).

Quando num programa de selecção se pretende maximizar o progresso genético no peso ao desmame, ambos os componentes (directos e maternos) devem ser tomados em conta, principalmente quando se verifica um antagonismo na relação entre eles. Nestes casos parece ser indicada a utilização de um índice de selecção com a ponderação adequada dos componentes directos e maternos (Van Vleck, 1970).

Um aspecto importante para uma correcta estimativa dos valores genéticos dos animais para determinada característica, reside numa utilização de parâmetros genéticos adequados e numa definição apropriada do modelo de análise a utilizar, para essa mesma característica. Outro aspecto não menos importante, consiste em considerar o facto de os parâmetros genéticos não serem constantes, mas que evoluem ao longo do tempo, podendo estar sujeitos aos efeitos da selecção e da consanguinidade. Actualmente, a nível internacional, o recurso ao BLUP - Modelo Animal para a estimativa de parâmetros genéticos e para a avaliação genética está generalizado, para uma ou várias características, considerando ou não os efeitos maternos. O objectivo deste trabalho foi obter estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos para características de crescimento e conformação na população Limousine explorada em Portugal, indispensáveis a uma avaliação genética que venha a ser realizada para aquelas características.

MATERIAIS E MÉTODOS

Informação Disponível

Foi utilizada toda a informação disponível no Herd Book Português da Raça Limousine (HBL), respeitante a genealogias e registos obtidos a partir do controlo de performances das campanhas realizadas nos anos de 1994, 1995, 1996 e parte de 1997. Foram completadas algumas genealogias de animais importados, a partir dos seus certificados de inscrição no Herd Book.

As explorações sujeitas ao controlo de performances e às classificações morfológicas representam cerca de 30% do efectivo nacional do Herd Book Limousine, que se encontra localizado, na sua maioria, a sul do Tejo (sobretudo no Litoral Alentejano e Algarve).

O controlo de performances tem como principal objectivo proporcionar a

realização da avaliação genética dos animais da raça Limousine, para diversas características de crescimento e conformação, sendo executado, anualmente, em cerca de 80 explorações aderentes ao HBL, incluindo perto de 900 animais, provenientes de um efectivo reprodutor de aproximadamente 2500 fêmeas. Este controlo consiste, nomeadamente, na:

- realização de pesagens dos vitelos;
- avaliação morfológica ao desmame, por pontuação;
- recolha e tratamento de dados e posterior divulgação.

As características de crescimento obtidas são: o peso ao nascimento, ajustado aos 120 (P120) e 210 dias de idade (P210), e os ganhos médios diários entre o nascimento e os 120 dias (G120) e entre os 120 e os 210 dias (G210), sendo obtidas através das seguintes fórmulas:

$$P120 = [((P_2 - P_1) / (Id_2 - Id_1)) * (120 - Id_1)] + P_1$$

$$P210 = [((P_2 - P_1) / (Id_2 - Id_1)) * (210 - Id_1)] + P_1$$

$$G120 = [(P120 - PN) / (120)]$$

$$G210 = [(P210 - P120) / (90)]$$

em que:

P₁: Peso à primeira pesagem; P₂: Peso à segunda pesagem; Id₁: Idade à primeira pesagem; Id₂: Idade à segunda pesagem; PN: Peso ao Nascimento. Para o P120 e P210, consideraram-se P₁ e P₂ como o último e o primeiro pesos registados antes e depois da idade padrão, respectivamente. Como a maioria dos animais não possuía informação sobre o peso ao nascimento, no cálculo do G120 utilizou-se o peso ao nascimento médio dos machos e fêmeas da raça Limousine (40 e 38, respectivamente).

Depois da edição, validação e correcção das genealogias e de uma verificação preliminar dos dados do controlo de performances obteve-se uma base de dados com 3552 registos de animais com pesagens e classificações morfológicas, que seria, posteriormente, submetida a várias correcções e validações, quer ao nível das datas das observações (nascimentos, pesagens e classificações), quer dos valores destas mesmas observações, tendo sido rejeitadas, em todas as características analisadas, todas as que se afastavam mais de 4 desvios padrões da média, critério sugerido para a validação de dados em bovinos de carne (Bertrand e Wiggans, 1998).

As avaliações morfológicas dos animais foram realizadas por um técnico credenciado pela "France Limousin Selection" (que lhe confere o estatuto de "In-

spector-Pontuador” da raça Limousine), sendo os animais pontuados entre os 6 e os 10 meses de idade, para poderem ser inscritos no HBL. Os indicadores morfológicos analisados neste estudo foram os seguintes:

↑ **Desenvolvimento Muscular (DM)** - Avaliado pelo comprimento, largura e espessura do dorso e desenvolvimento muscular da perna (“gigot”).

↑ **Desenvolvimento Esquelético (DS)** - Avaliado pela forma e comprimento do tronco e pelas dimensões da bacia. Valoriza-se a largura, a profundidade, o comprimento e a angulação dos principais conjuntos estruturais do esqueleto: peito e espáduas, dorso, costados e bacia.

Os indicadores de conformação DM e DS, são definidos pelo somatório de dois diferentes conjuntos de cinco componentes, e são classificados numa escala de 0 a 100.

As genealogias dos animais em controle de performances foram completadas com base em toda a informação disponível, constituindo-se um ficheiro de pedigrees com 6536 indivíduos, cujo nível de preenchimento se encontra representado na Figura 2.

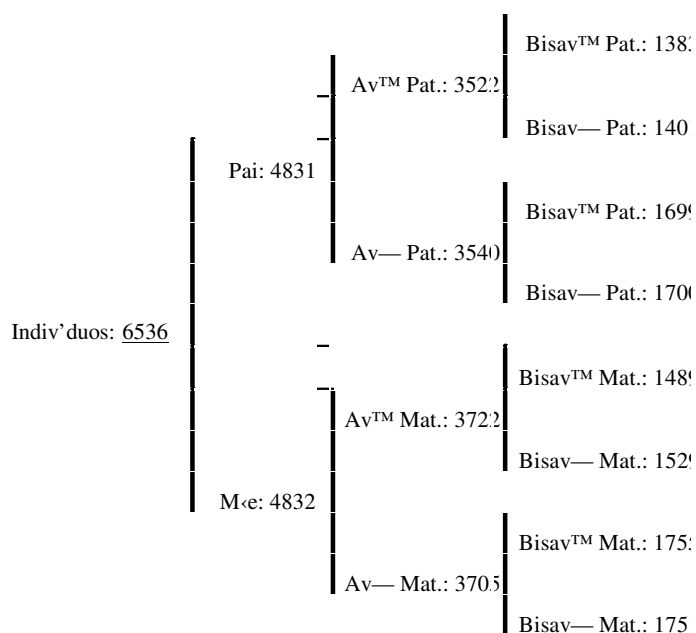


Figura 2. Nível de preenchimento das genealogias de indivíduos na matriz de parentescos.

Análise Estatística

Todas as características estudadas foram inicialmente submetidas a uma análise de variância preliminar, através do PROC GLM do SAS (1988), com o objectivo de determinar quais os factores fixos a incluir no modelo de análise para cada característica. Foi calculada a consanguinidade para todos os indivíduos (n=6536) da matriz de parentescos, mas a depressão consanguínea resultante, quer da consanguinidade individual, quer da materna, não foi considerada nas análises, por serem poucos os animais consanguíneos.

As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas mediante a utilização do BLUP - Modelo Animal, por máxima verosimilhança restrita através do programa MTDFREML - **M**ultiple **T**rait **D**erivate-**F**ree **R**estricted **M**aximum **L**ikelihood, desenvolvido por Boldman *et al.* (1993). Este programa utiliza o método Simplex, que frequentemente é denominado de "polítopo", e que consiste num procedimento que localiza de uma forma iterativa um mínimo de uma função, nomeadamente o mínimo de $-2 \log$ da função de verosimilhança (L), através de uma busca directa, sem utilizar derivadas. A análise foi realizada inicialmente para cada uma das variáveis consideradas, procedendo-se depois a um conjunto de análises bivariadas (uma para cada par de características, num total de 15 combinações) de forma a poder estimar as correlações genéticas e fenotípicas entre características.

O critério inicial de convergência para as análises univariadas e bivariadas foi de $\text{Var} [-2 \log (L)] < 1 \times 10^{-6}$. Após a primeira convergência (1×10^{-6}), reiniciaram-se os cálculos, com as estimativas de parâmetros anteriormente obtidas, e em que o critério de convergência foi de $\text{Var} [-2 \log (L)] < 1 \times 10^{-9}$. Posteriormente, realizaram-se várias convergências com este critério, até que os valores obtidos fossem idênticos aos valores de partida, o que presumivelmente significa que representam o máximo global.

O MTDFREML permite a obtenção de estimativas de componentes de (co)variância, assim como soluções para os efeitos fixos e valores genéticos, através do modelo animal (ou outros), por análises univariadas ou multivariadas, e em que o modelo animal pode incluir efeitos genéticos aditivos, outros efeitos aleatórios correlacionados (e.g. efeitos genéticos maternos), independentes (e.g. efeitos ambientais permanentes), e efeitos fixos e covariáveis específicos para cada característica.

Os parâmetros genéticos das características de crescimento P120, P210, G120 e G210 foram estimados por análises univariadas através de um modelo

animal, com efeitos genéticos directos, maternos e ambientais permanentes, que em notação matricial pode expressar-se da seguinte forma:

$$y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_p p + e \quad [1]$$

em que:

y é o vector de observações;

b é o vector de efeitos fixos;

a é o vector de efeitos genéticos aditivos directos;

m é o vector de efeitos genéticos aditivos maternos;

p é o vector de efeitos ambientais maternos permanentes;

e é o vector de efeitos residuais;

X, **Z_a**, **Z_m**, **Z_p**, são matrizes de incidência conhecidas que relacionam os efeitos fixos (**X**) e aleatórios (**Z_a**, **Z_m** e **Z_p**) com o vector de observações **y**.

Como efeitos fixos foram considerados os seguintes factores:

ano de nascimento (1993, 1994, 1995, 1996 e 1997);

mês de nascimento (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12);

sexo (M e F);

número de parto da mãe (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7);

criador (1, 2, 3, ... , 83, 84).

Os parâmetros genéticos para as características de conformação DM e DS, foram estimados por análises univariadas através de um Modelo Animal idêntico ao Modelo I, com a particularidade de os efeitos fixos incluírem, como covariável, o efeito linear da idade do animal à classificação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estatísticas descritivas e efeitos fixos

As principais estatísticas descritivas das várias características analisadas encontram-se sumarizadas no Quadro I. Comparativamente aos resultados do controlo de performances realizado em França, que envolve anualmente mais de 50.000 animais, os resultados registados em Portugal foram semelhantes.

As soluções de efeitos fixos obtidas pelo Modelo Animal indicam que, devido às diferentes características das explorações consideradas (e, conseqüentemente, aos diferentes tipos de manejo praticados), verificaram-se grandes diferenças entre os efeitos ambientais das explorações em todas as características

analisadas, com diferenças máximas entre explorações de 81.7 kg no P120, 159.5 kg no P210, 677 g no G120 e 1254 g no G210 (Figura 3).

QUADRO I - ESTATÍSTICAS DESCRITIVAS PARA AS CARACTERÍSTICAS ANALISADAS.

Características	N ^{1/4} obs.	M ^{dia}	DP
P120 (kg)	2673	152,4	28,6
P210 (kg)	2707	239,9	46,6
G120 (g)	2673	946	236
G210 (g)	2603	976	274
DM	2570	57,85	6,12
DS	2570	59,58	5,34

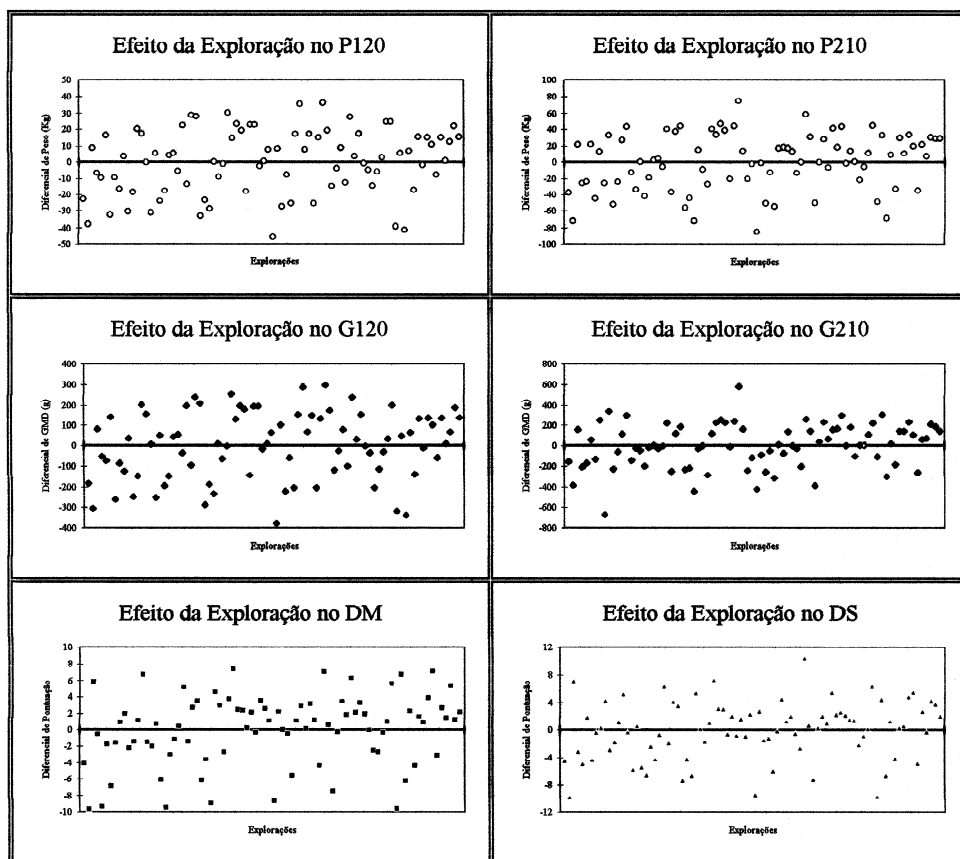


Figura 3. Efeito da exploração nas características de crescimento e conformação (expresso relativamente ao valor médio de cada característica).

Nas características de conformação registaram-se diferenças máximas entre explorações de 17 pontos no DM e 20 no DS. Estes resultados confirmam que as diferenças entre explorações são de enorme importância, e realçam a necessidade da existência de conexões entre explorações, já que se estas não estiverem geneticamente conectadas, é de reduzido significado a comparação do mérito genético de animais de diferentes explorações.

As correlações entre as soluções dos efeitos da exploração para as várias características analisadas (Quadro II) foram positivas e de um modo geral elevadas variando entre 0.23 e 0.94, e indicando que os efeitos da exploração em determinado característica estão fortemente associados aos efeitos em quase todas as outras características.

QUADRO II - CORRELAÇÕES ENTRE SOLUÇÕES DOS EFEITOS DA EXPLORAÇÃO.

Características	P210	G120	G210	DM	DS
P120	0,79	0,94	0,51	0,74	0,72
P210		0,76	0,31	0,70	0,80
G120			0,64	0,70	0,63
G210				0,53	0,23
DM					0,86

Todas as características analisadas apresentaram diferenças devidas ao efeito ambiental do ano de nascimento. Animais nascidos em 1994 tiveram um efeito ambiental favorável no peso aos 120 e 210 dias e no G120, enquanto para o G210 o ano de 1993 foi mais favorável. Relativamente às características de conformação, também se verificaram efeitos importantes do ano, embora estas diferenças fossem mais reduzidas, com efeitos ambientais do ano representando, relativamente à média, no máximo 11 e 3% para o DM e DS, respectivamente. Apesar das variações observadas ao longo destes 5 anos serem evidentes em todas as características estudadas, não foi possível constatar qualquer tipo de tendência ambiental.

Tanto as características de crescimento como de conformação (estes últimos de uma forma mais reduzida) foram influenciadas pelo mês em que os animais nasceram. O P120 e o G120 foram mais elevados nos animais nascidos em Janeiro-Março, verificando-se que para o P210 os valores mais altos foram observados nos vitelos nascidos entre Novembro e Março, e para o G210 nos animais nascidos entre Outubro e Dezembro. Estes resultados parecem indicar que os animais, ao beneficiarem de um ambiente favorável na Primavera,

apresentam durante esta época melhores performances de crescimento. Deste modo, e consoante a idade que os animais atingem esta época do ano, este tipo de influência ambiental irá reflectir-se no peso obtido na idade padrão (p.e P120, P210) quando esta é atingida próxima ou a seguir à Primavera. Constatou-se uma superioridade em todas as características de conformação em animais nascidos entre Setembro e Novembro, possivelmente devido à classificação destes animais efectuar-se, na maioria dos casos, durante a Primavera.

Relativamente às fêmeas, os machos foram mais pesados cerca de 11 e 24 kg, aos 120 e 210 dias de idade, respectivamente, apresentando uma superioridade média nas velocidades de crescimento de 77 g/dia entre o nascimento e os 120 dias de idade, e 141 g/dia entre os 120 e os 210 dias. No que diz respeito às características de conformação as diferenças entre sexos foram reduzidas, verificando-se uma tendência para os machos terem pontuações mais elevadas no DM (+1.6) sendo praticamente semelhantes as classificações entre sexos no DS.

O número de parto da vaca teve um efeito aproximadamente quadrático em todas as características de crescimento e conformação analisadas, observando-se valores mais elevados em vitelos nascidos de vacas com um número de parto intermédio e os valores mais baixos em vitelos filhos de primíparas ou de vacas com 7 ou mais partos.

Variâncias e coeficientes de correlação fenotípicos

O desvio de padrão fenotípico, ajustado para os efeitos fixos considerados, foi de cerca de 20.7 kg para o P120, 30.5 kg para o P210, e de 5.0 e 4.4 pontos para o DM e DS, respectivamente. O valor correspondente para o ganho médio diário foi de 171 g até aos 120 dias e 189 g até aos 210 dias.

Os coeficientes de correlação fenotípicos entre as várias características estudadas, de um modo geral, foram positivos, moderados a elevados (Quadro III).

As características de crescimento estão altamente correlacionadas entre si (correlações entre 0.76 e 0.99), com a excepção das correlações P120*G210 e G120*G210, que foram moderadas (0.28 e 0.29, respectivamente). Estes resultados indicam que o crescimento até aos 120 dias de idade e após os 120 dias estão fracamente correlacionados, o que poderá resultar, por exemplo, de uma menor influência materna nesta segunda fase, de fenómenos de crescimento compensatório ou da existência de influências ambientais importantes, tais como a altura do ano em que ocorre cada fase do crescimento. Como seria de esperar,

o G120 está fortemente relacionado com o P120 e com o P210 (0.99 e 0.84, respectivamente), tal como os dois pesos entre si (0.84), ou seja, o peso que o animal atinge em determinada idade, está altamente relacionado com a velocidade de crescimento ou com o peso atingido em idades anteriores. Isto resulta, em boa parte, do facto de se tratarem de correlações parte-todo.

QUADRO III - CORRELAÇÕES E VARIÂNCIAS FENOTÍPICAS. ⁽¹⁾

Características	P120	P210	G120	G210	DM	DS
P120	427.67	0,84	0,99	0,28	0,34	0,44
P210		928.48	0,84	0,76	0,48	0,53
G120			29320	0,29	0,35	0,45
G210				35760	0,38	0,38
DM					24.78	0,61
DS						19.13

(1): variâncias na diagonal; correlações fenotípicas fora da diagonal

Vários autores têm referido que os pesos dos bovinos em diferentes idades, de um modo geral, estão positivamente correlacionados (Williams *et al.*, 1979; Bellido, 1985; Jenkins *et al.*, 1991; Mohiuddin, 1993; Koots *et al.*, 1994b), mesmo quando estas correlações são estimadas para idades muito afastadas, como por exemplo entre o peso ao nascimento e o peso adulto (DeNise e Brinks, 1985; Jenkins *et al.*, 1991). No entanto, o valor da correlação fenotípica entre pesos a diferentes idades tende a aumentar à medida que se reduz o período de tempo considerado entre essas mesmas idades (Jenkins *et al.*, 1991; Crump *et al.*, 1994).

A correlação positiva, ainda que moderada (0.61), entre as características de conformação indica que animais melhor pontuados numa das características tendem a ter pontuação mais elevada na outra característica. O P210 foi a característica de crescimento que apresentou correlações mais elevadas com as características de conformação, possivelmente devido à idade média com que os animais são classificados (243.2 ± 46.0 dias) ser próxima dos 210 dias de idade, e haver uma clara influência positiva do peso na avaliação morfológica. Estes resultados são semelhantes às estimativas das mesmas correlações fenotípicas obtidas por Shi (1993), para a raça Limousine em França, mas diferem dos resultados obtidos anteriormente por Renand (1985), citado por Koots *et al.* (1994b), que foram próximos de zero.

Parâmetros genéticos e ambientais para as características analisadas

As estimativas dos parâmetros genéticos para as várias características

estudadas, obtidas em análises univariadas e bivariadas por máxima verosimilhança restrita, estão apresentadas no Quadro IV, e demonstram, na generalidade, uma boa concordância entre os dois tipos de análise.

QUADRO IV – ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS. ⁽¹⁾

		P120	P210	G120	G210	DM	DS
Análises Univariadas	h^2_A	0,61	0,63	0,62	0,46	0,20	0,29
	h^2_M	0,32	0,26	0,33	0,17	0,02	0,21
	r_{AM}	-0,79	-0,79	-0,80	-0,85	-0,70	-0,91
	c^2	0,08	0,06	0,08	0,00	0,08	0,00
Análises Bivariadas	h^2_A	0,60	0,65	0,60	0,45	0,22	0,27
	h^2_M	0,32	0,26	0,34	0,17	0,04	0,16
	r_{AM}	-0,71	-0,71	-0,70	-0,84	-0,26	-0,80
	c^2	0,03	0,02	0,03	0,00	0,03	0,00
Análises Univariadas	σ^2_A	260,4	584,1	18240	16540	5,05	5,53
	σ^2_M	136,7	244,4	9640	6010	0,57	3,93
	σ^2_C	34,6	67,7	2390	0,0	1,99	0,0
	σ^2_E	145,6	331,3	9710	21670	18,37	13,92
	σ^2_P	427,7	928,5	29320	35760	24,78	19,13

(1): h^2_A e h^2_M - heritabilidades para os efeitos directos e maternos, respectivamente; r_{AM} - correlação genética entre efeitos directos e maternos; c^2 - efeito ambiental maternal permanente; σ^2_A , σ^2_M , σ^2_C , σ^2_E e σ^2_P - variâncias genética directa, genética materna, ambiental maternal permanente, ambiental temporária e fenotípica, respectivamente

Estes resultados indicam que a heritabilidade dos efeitos directos é bastante mais elevada do que a dos efeitos maternos, o que pressupõe que a variabilidade genética nas características de crescimento e de conformação é mais determinada pelo potencial genético do vitelo do que pelas características maternas.

As estimativas das heritabilidades dos efeitos directos para as características de crescimento foram elevadas (0.46 a 0.63), superiores às estimativas para as características de conformação (0.20 e 0.29) e superiores às médias das estimativas disponíveis na bibliografia, embora também existam várias referências de estimativas superiores às obtidas neste trabalho (Brown *et al.*, 1990; Johnson *et al.*, 1992; Meyer, 1992; Robison e Rourke, 1992).

Quanto às estimativas das heritabilidades para os efeitos maternos, que foram inferiores às dos efeitos directos, encontram-se mais próximas dos valores médios referidos na bibliografia (Mohiuddin, 1993; Shi, 1993; Koots *et al.* 1994a, resultados resumidos no Quadro V). Na generalidade dos trabalhos constatou-se que existe algum antagonismo entre os efeitos directos e os efeitos maternos

(com correlações médias entre efeitos directos e maternos variando entre -0.17 e -0.35). No que diz respeito aos efeitos ambientais permanentes, normalmente representam valores inferiores a 10% da variância fenotípica total (Quadro V).

QUADRO V - RESULTADOS DE REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS DE ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS PARA CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO EM BOVINOS DE CARNE.

Autor	Características (1)	Médias Estimativas (2)			
		h^2_A	h^2_M	r_{AM}	c^2
Mohiuddin, 1993	PN	0,30 (43)	0,10 (38)	-0,35 (27)	0,03 (18)
	PD	0,22 (53)	0,13 (41)	-0,15 (26)	0,07 (24)
	P1	0,31 (35)	0,11 (23)	-0,26 (10)	0,03 (15)
Shi, 1993	PN	0,31 (28)	0,17 (21)	-0,27 (21)	0,02 (9)
	PD	0,26 (27)	0,21 (23)	-0,17 (23)	0,07 (10)
	GMD ₀ /desm	0,35 (9)	0,24 (8)	-0,27 (8)	0,09 (1)
Koots <i>et al.</i> , 1994a e 1994b	PN	0,35 (172)	0,18 (35)	-0,35 (>10)	
	PD	0,27 (239)	0,20 (38)	-0,16 (>10)	
	P1	0,35 (154)	0,11 (6)	$\frac{3}{4}$	
	GMD ₀ /desm	0,27 (109)	0,23 (16)	-0,25 (>10)	

(1): PN - Peso ao Nascimento; PD - Peso ao Desmame; P1 - Peso com 1 ano; GMD₀/desm - Ganho médio diário do nascimento ao desmame. (2): h^2_A e h^2_M - heritabilidade para os efeitos directos e maternos, respectivamente; r_{AM} - correlação genética entre efeitos directos e maternos; c^2 - efeito ambiental maternal permanente; () número de estimativas.

Os trabalhos sobre características de conformação têm sido apresentados com menor frequência do que relativamente às características de crescimento, e a maioria destes trabalhos apenas consideram os efeitos directos. No Quadro VI estão apresentados resultados de trabalhos em que foram obtidas estimativas de parâmetros genéticos para características de conformação. É possível constatar que existe uma maior influência dos efeitos directos do que dos efeitos maternos nas características de conformação, e que o antagonismo entre estes efeitos parece ser importante.

As estimativas superiores das variâncias genéticas directas (σ^2_A) relativamente às genéticas maternas (σ^2_M) estão de acordo com os resultados das revisões de Mohiuddin (1993), Shi (1993) e Koots *et al.* (1994a) e ainda, de acordo com diversos trabalhos sobre este tema (Quaas *et al.*, 1985; Bertrand e Benyshek, 1987; Wright *et al.*, 1987; Cantet *et al.*, 1988; Trus e Wilton, 1988; Núñez-Dominguez *et al.*, 1993; Arthur *et al.*, 1994; Crump *et al.*, 1994; Pang *et al.*, 1994; Koch *et al.*, 1995; Van Vleck *et al.*, 1996), ainda que os resultados obtidos neste estudo para a heritabilidade dos efeitos directos sejam superiores à maioria

dos resultados apresentados na literatura. Outros autores chegaram a resultados diferentes no que diz respeito à importância relativa das herdabilidades para os efeitos directos e maternos.

QUADRO VI - REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS DE ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS PARA CARACTERÍSTICAS DE CONFORMAÇÃO EM BOVINOS DE CARNE.

Características (1)	Raça	País	Nº obs.	Método	Estimativas (2)				Referência
					h^2_A	h^2_M	r_{AM}	c^2	
DM	Charolesa	França	8101	HendóIII	0,27				Lalo' <i>et al.</i> , 1988
DS	Charolesa	França	8101	HendóIII	0,30				Lalo' <i>et al.</i> , 1988
DM	Limousine	França	168980	Tilde-Hat	0,32	0,05	-0,44	0,04	Shi, 1993
DS	Limousine	França	168980	Tilde-Hat	0,31	0,07	-0,40	0,05	Shi, 1993

(1): DM - Desenvolvimento Muscular; DS - Desenvolvimento Esquelético. (2): h^2_A e h^2_M - herdabilidade para os efeitos directos e maternos, respectivamente; r_{AM} - correlação genética entre efeitos directos e maternos; c^2 - efeito ambiental maternal permanente.

A amplitude das estimativas obtidas por diversos autores e disponíveis na literatura, é justificável, entre outras razões, pela diversidade de raças incluídas, variabilidade das condições ambientais, modelos de análise usados, métodos utilizados para a obtenção das estimativas, etc.

A importância relativa das herdabilidades para os efeitos directos e maternos nas características de crescimento pode variar consoante a idade ou período considerado. Apesar de neste trabalho não ter sido possível estimarem-se os parâmetros genéticos para o peso ao nascimento, Mohiuddin (1993) refere na sua revisão que se trata de uma característica em que se podem estimar valores bastante diferentes (estimativas de 43 trabalhos apontam h^2_a entre 0.14 e 0.61 e h^2_m entre 0.03 e 0.82). De um modo geral, para o peso ao nascimento, a herdabilidade dos efeitos directos é superior à dos efeitos maternos, e esta superioridade relativa mantém-se, apesar de diminuir, quando estimada para pesos entre o nascimento e o desmame, e aumenta quando os valores considerados se referem a estimativas para o peso ao desmame.

Quando considerado um peso entre o nascimento e o desmame, em que a expressão fenotípica é, em parte, determinada pelas características maternas (Meyer *et al.*, 1994), devido ao facto do animal, nesta fase, estar bastante dependente do ambiente materno, os efeitos genéticos maternos explicam uma

maior parte da variabilidade do peso. A uma idade mais avançada, por exemplo após o desmame, em que o animal já está mais independente da mãe, e em condições normais, com capacidade para se desenvolver separado da sua progenitora, os efeitos directos evidenciam-se novamente como mais explicativos da variabilidade fenotípica da característica. Na nossa análise, a heritabilidade dos efeitos maternos é particularmente baixa para o crescimento entre os 120 e os 210 dias, ainda que nesta fase também se tenha observado uma redução da heritabilidade para os efeitos directos.

A superioridade da heritabilidade dos efeitos directos relativamente à dos efeitos maternos nas características de conformação, à partida já era esperada, uma vez que, na avaliação genética destas características de conformação realizada em França para diversas raças, não são incluídos os efeitos maternos (INRA, 1995), considerando-se que estes efeitos explicam apenas uma pequena parte (menos de 5%) da variabilidade total das características de conformação (Bovins Limousins, 1994).

Como já foi referido, os animais são classificados a uma idade média próxima dos 240 dias de idade, portanto posterior ao desmame, numa fase em que já estão independentes da mãe. No entanto, como se verificou que a variabilidade das características DM e DS é, ainda que numa proporção reduzida, justificada pelos efeitos maternos, incluíram-se estes efeitos nos respectivos modelos de análise.

Um dado relevante, mas não inesperado, foi o elevado antagonismo entre os efeitos directos e maternos em todas as características consideradas. Na maioria das referências bibliográficas (Mohiuddin, 1993; Shi, 1993; Koots *et al.* 1994a), com estimativas para características idênticas, têm-se constatado valores negativos da correlação entre efeitos genéticos directos e maternos (r_{AM}). Contudo, os valores obtidos neste trabalho, para a raça Limousine em Portugal (-0.70 a -0.91), indicam um antagonismo mais elevado do que o obtido por Shi (1993), em França, na análise de características de crescimento na mesma raça (-.11 a -.47). Ainda que a maioria dos trabalhos publicados indiquem que a correlação entre efeitos directos e maternos é negativa em bovinos de carne, outros estudos indicam que esta correlação nas características de crescimento pode ser positiva (Meyer *et al.*, 1991). Van Vleck *et al.* (1996) sugerem que a r_{AM} para o peso ao desmame em diferentes raças, pode apresentar valores bastante variáveis, negativos, positivos ou próximos de zero, dependendo em boa parte da importância relativa das estimativas da variância genética para efeitos directos e maternos.

As estimativas negativas da r_{AM} indicam que alguns genes (ou grupos de genes) têm efeitos opostos nos componentes directos e maternos das várias características, ou seja, animais com potencial genético superior para o crescimento ou conformação tendem a ter potencial genético inferior para características maternas, e vice-versa. Alguns autores sugerem que este antagonismo pode ser devido ao efeito da selecção natural ao longo de muitas gerações (Falconer, 1989; Garrick, 1990; Van Vleck, 1993).

Quando se verifica um antagonismo entre os componentes directos e maternos de determinada característica, o progresso genético desta mesma característica pode ser afectado, já que uma correlação negativa significa que o progresso realizado num dos componentes pode condicionar a resposta no outro. Quando num programa de selecção se pretende atingir o progresso genético óptimo, ambos os componentes (directos e maternos) devem ser tomados em conta e parece ser indicada a utilização de um índice de selecção com a ponderação adequada dos componentes directos e maternos (Van Vleck, 1970), tendo em conta que o efeito materno se manifesta em todos os partos de uma fêmea enquanto o efeito directo apenas se manifesta uma vez na vida do vitelo.

Para um progresso genético eficaz das características de crescimento e conformação em bovinos da raça Limousine, parece-nos imprescindível a utilização deste tipo de índice. No entanto, dada a utilização de touros Limousine em cruzamento terminal com fêmeas de outras raças, como é frequente em Portugal, a escolha destes reprodutores deverá ser feita sobretudo com base no seu valor genético directo, uma vez que o que interessa neste tipo de sistema é que o touro transmita aos filhos um bom potencial de crescimento.

A influência ambiental permanente (c^2) foi reduzida em todas as características estudadas, nula para o G210 e DS, e entre 6 e 8% da variância fenotípica para as restantes características consideradas. Estes valores estão de acordo com a maioria das referências bibliográficas e com os valores obtidos por Shi (1993). Segundo diversos autores (Quaas *et al.*, 1985; Bertrand e Benyshek, 1987; Wright *et al.*, 1987) o efeito ambiental permanente nas características de crescimento e conformação em bovinos de carne é, de um modo geral, reduzido.

As correlações genéticas para os efeitos directos e maternos entre diferentes características de crescimento foram obtidas por máxima verosimilhança restrita, em análises bivariadas, e encontram-se no Quadro VII. Entre os efeitos directos, as correlações foram elevadas e positivas (0.49 a 0.99), verificando-se uma das correlações mais baixas (0.52) entre os efeitos directos para os ganhos antes e

após os 120 dias de idade. Contudo, a correlação genética entre efeitos directos para o peso aos 120 e 210 dias foi bastante elevada (0.91), em parte devido à correlação parte-todo subjacente, já que a correlação entre o P120A e o G210A foi a mais baixa (0.49).

Quadro VII - Correlações genéticas entre características de crescimento. ⁽¹⁾

Característica	P210 _A	P210 _M	G120 _A	G120 _M	G210 _A	G210 _M
P120 _A	0,91	-0,70	0,99	-0,67	0,49	-0,35
P120 _M	-0,63	0,93	-0,58	0,99	-0,53	0,65
P210 _A			0,90	-0,61	0,81	-0,61
P210 _M			-0,52	0,93	-0,72	0,85
G120 _A					0,52	-0,34
G120 _M					-0,58	0,66

(1): **A** e **M** representam, respectivamente, os efeitos genéticos directos e genéticos maternos.

Animais com um elevado potencial genético de crescimento até aos 120 dias de idade tendem a ser geneticamente superiores aos 210 dias de idade, e vice versa. Estes resultados estão de acordo com diversos trabalhos referidos nas revisões de Mohiuddin (1993), Shi (1993) e Koots *et al.* (1994b).

As correlações genéticas para os efeitos maternos entre as diferentes características de crescimento também foram elevadas e positivas (0.65 a 0.99), indicando que animais com um valor genético materno superior para uma das características tendem a ter também um valor genético materno superior em qualquer das outras características de crescimento estudadas. Shi (1993), que obteve resultados semelhantes para a raça Limousine em França, refere a propósito destas estimativas entre efeitos maternos que as diferentes fases de aleitamento dos vitelos (nascimento aos 120 dias e dos 120 aos 210 dias) são, possivelmente, controlados pelos mesmo genes da mãe. A correlação genética entre G120_M e G210_M foi a mais baixa (0.66), apesar de positiva e elevada.

As correlações genéticas entre efeitos directos e efeitos maternos de diferentes características foram todas negativas (-0.35 a -0.72), confirmando-se o antagonismo entre estes dois componentes de crescimento, mesmo quando estimados em diferentes fases da vida dos animais. Estes resultados demonstram valores das correlações entre efeitos directos-maternos superiores aos obtidos para a raça Limousine em França e no Reino Unido, respectivamente, por Shi (1993) e Crump *et al.* (1994), ainda que estes autores também tenham encontrado

correlações negativas (respectivamente, entre -.24 e -.47 e entre -.15 e -.38).

As estimativas das correlações genéticas para os efeitos directos e maternos entre as características de conformação estão representadas no Quadro VIII, e indicam uma relação positiva e elevada quando considerado o mesmo componente genético (directo ou materno). Entre efeitos directos obtive-se uma correlação de 0.81, e entre efeitos maternos uma correlação de 0.86. As estimativas entre os componentes directos e maternos foram negativas mas reduzidas (-0.09 e -0.37).

Foram encontradas poucas referências bibliográficas com estimativas de parâmetros genéticos em idênticas características de conformação, mas podemos referir os trabalhos de Laloë *et al.* (1988) e de Shi (1993), em que se obtiveram valores semelhantes (0.87) para a correlação genética entre efeitos maternos do DM e DS. A correlação entre efeitos genéticos directos das características DM e DS, contrariamente à estimada neste trabalho (0.81), foi negativa e baixa. Naturalmente que a natureza subjectiva inerente a características morfológicas deste tipo dificulta a possível comparação com outros trabalhos, já que apesar de haver uma tentativa de uniformizar critérios de classificação para a raça Limousine, há sempre algum grau de subjectividade, sobretudo quando um sistema de classificação está em fase de implementação.

QUADRO VIII - CORRELAÇÕES GENÉTICAS ENTRE CARACTERÍSTICAS DE CONFORMAÇÃO. ⁽¹⁾

Característica	DS _A	DS _M
DM _A	0,81	-0,09
DM _M	-0,37	0,86

(1): **A** e **M** representam, respectivamente, os efeitos genéticos directos e genéticos maternos.

As correlações genéticas entre características de crescimento e características de conformação foram moderadas ou reduzidas, consoante os efeitos (directos ou maternos) e as características consideradas (Quadro IX). As correlações genéticas entre o DM e as características de crescimento foram reduzidas, excepto com o P210, em que se verificaram correlações de 0.52 (DM_A*P210_A) e de 0.77 (DM_M*P210_M). Os mesmos tipos de efeitos (directo ou materno) nestas duas características parecem estar, de certo modo, geneticamente associados.

Quanto ao DS, apenas os efeitos maternos estão geneticamente associados aos efeitos também maternos das características de crescimento. As correlações

entre efeitos directos e maternos, incluindo o DS e as características de crescimento, foram, na sua maioria reduzidas e negativas.

QUADRO IX - CORRELAÇÕES GENÉTICAS ENTRE CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E CONFORMAÇÃO. ⁽¹⁾

Características	P120 _A	P120 _M	P210 _A	P210 _M	G120 _A	G120 _M	G210 _A	G210 _M
DM _A	0,10	0,13	0,52	-0,28	0,23	0,01	0,04	-0,01
DM _M	-0,10	0,70	-0,21	0,77	-0,04	0,71	-0,15	0,56
DS _A	0,12	-0,23	0,13	-0,32	0,26	-0,38	-0,07	0,00
DS _M	0,01	0,50	-0,13	0,58	-0,14	0,60	-0,13	0,36

(1): **A** e **M** representam, respectivamente, os efeitos genéticos directos e genéticos maternos.

Mohiuddin (1993) refere sobre as correlações entre características de crescimento e conformação, que parece haver poucos genes que afectem em simultâneo ambos os tipos de características, daí resultando reduzidas correlações genéticas, podendo assim concluir-se que a selecção pelo tipo não resultará em progresso genético apreciável no valor genético directo ou materno para o peso aos 120 ou 210 dias.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo devem ser considerados como preliminares, na medida em que o número de animais envolvidos não foi elevado e o grau médio de conexão entre explorações foi reduzido. Prevê-se que o número de animais a incluir em futuras análises aumente progressivamente, uma vez que se pretende dar continuidade ao controlo de performances. A necessidade de estabelecer um esquema de conexão entre explorações, conseguida por utilização alargada de sêmen de touros de referência, deverá ser levada em consideração pela Associação de Criadores de Limousine, pelo facto de ser um elemento determinante para uma correcta estimativa dos parâmetros e valores genéticos.

De futuro, outras características deverão ser consideradas na avaliação genética, nomeadamente, os pesos ao nascimento e ao abate e, dentro do possível, algumas características relacionadas com a carcaça, tais como o peso, a conformação e classificação. Algumas características reprodutivas, como o intervalo entre partos, poderão brevemente vir a ser incluídas.

A curto prazo, os resultados da avaliação genética deverão tornar-se um instrumento de gestão para os criadores de Limousine, e para qualquer outro criador que pretenda adquirir animais desta raça. Posteriormente, os resultados das futuras avaliações genéticas realizadas em Portugal poderão ser incluídos

na divulgação anual do “Conseil International Limousin”, que em 1998 publicou dados de avaliações realizadas em cinco grupos de países: Austrália-Nova Zelândia, Dinamarca, França-Itália-Luxemburgo, Reino Unido e EUA-Canadá.

Os resultados deste trabalho demonstram que a variabilidade genética existente, sobretudo para efeitos directos nas características de crescimento (os mais importantes numa raça utilizada em cruzamento terminal), permite encarar com optimismo a evolução esperada de um programa de selecção bem conduzido. Os aspectos principais deste programa (manutenção de genealogias, controlo de performances e inseminação artificial) estão já postos em prática, havendo apenas que alargar o âmbito de actividades e fazer alguns ajustamentos que permitam tornar mais eficaz o programa de selecção da raça Limousine em Portugal.

BIBLIOGRAFIA

- Baker, R. L., 1980. The role of maternal effects on the efficiency of selection in beef cattle: a review. *Proceedings N Z Soc. Anim. Prod.*, 40:285.
- Bellido, M. M., 1985. Influencia de ciertos factores ambientales sobre productividad del ganado vacuno Retinto en la dehesa. INIA, Madrid.
- Benyshek, L. L., M. H. Johnson, D. E. Little, J. K. Bertrand e L. A. Kriese, 1988. Applications of an animal model in the United States beef cattle industry. *Proceedings Anim. Model Workshop. J. Dairy Sci.*, 71 (Supl. 2) :35.
- Bertrand, J. K. e L. L. Benyshek, 1987. Variances e covariances estimates for maternally influenced beef growt traits. *J. Anim. Sci.*, 64:728.
- Boldman, K. G., L. A. Kriese, L. D. Van Vleck e S. D. Kachman, 1993. A manual for use of MTDFREML. A set of programs to obtain estimates of variances and covariances. United States Departement of Agriculture, Agricultural Research Service.
- Bovins Limousins, 1994. Les meilleurs sur index sevrage. UPRA France Limousin Sélection, Boisseul, France.
- Cantet, R. J. C., D. D. Kress, D. C. Anderson, D. E. Doornbos, P. J. Buerfening e R. L. Blackwell, 1988. Direct and maternal variances and covariances and maternal phenotypic effects on preweaning growth of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 66:648.
- Crump, R. E., G. Simm, D. Nicholson, R. H. Findlay, J. G. E. Bryan e R. Thompson, 1994. Genetic evaluation of british pedigree beef cattle breeds. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Guelph, Canada, 17:180.
- DeNise, R. S. e J. S. Brinks, 1985. Genetic and environmental aspects of the growth curve parameters in beef cows. *J. Anim. Sci.*, 61:1431.
- Dickerson, G. E., 1978. Animal size and Efficiency: Basic Concepts. *Anim. Prod.*, 24:367.
- Falconer, D. S., 1989. Introduction to Quantitative Genetics. Longman Scientific and Technical, London.

- Fitzhugh, H. A., 1976. Analysis of growth curves and strategies for altering their shape. *J. Anim. Sci.*, 42:1036.
- Gama, L. T., K. G. Boldman e R. K. Johnson, 1991. Estimates of genetic parameters for direct and maternal effects on embryonic survival in swine. *J. Anim. Sci.*, 69:4801.
- Garrick, D. J., 1990. Maternal effects on growth in beef cattle. Proceedings of the 8th Conference, Australian Association of Animal Breeding and Genetics.
- INRA, 1995. Répertoire Français des méthodes et des procédures de contrôle et d'évaluation génétique. Institut de l'Élevage, Département Génétique et Contrôle des Performances, 1ère édition, Mai 1995.
- Jenkins, T. G., M. Kaps, L. V. Cundiff e C. L. Ferrell, 1991. Evaluation of between and within breed variation in measures of weight-age relationships. *J. Anim. Sci.*, 69:3118.
- Koch, R. M., L. V. Cundiff e K. E. Gregory, 1995. Direct and Maternal Genetic responses to selection for weaning or yearling weight or for yearling weight and muscle score in Hereford cattle. *J. Anim. Sci.*, 73:2951.
- Koots, K. R., J. P. Gibson e J. W. Wilton, 1994a. Analyses of published genetic parameter estimates for beef production traits. 1. Heritability. *Anim. Breed. Abst.*, 62:5.
- Koots, K. R., J. P. Gibson e J. W. Wilton, 1994b. Analyses of published genetic parameter estimates for beef production traits. 2. Phenotypic and genetic correlations. *Anim. Breed. Abst.*, 62:11.
- Laloë, D., G. Renand, F. Menissier, J. M. Astruc, J. Gaillard e J. Sapa, 1988. Genetic parameters among preweaning calf performance for beef breeds in French field record programs. Proceedings of the 3rd World Congress on Sheep and Beef Cattle Breeding, 1:355.
- Ménissier, F., 1976. Comments on optimization of cattle breedings schemes: beef breeds for suckling herds. A review. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, 8:71.
- Meyer, K., K. Hammond, M. J. Mackinnom e P. F. Parnell, 1991. Estimates of covariances between reproduction and growth in Australian beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 69:3533.
- Meyer, K., M. J. Garrick e B. J. P. Donnelly, 1994. Genetic parameters for milk production of Australian beef cows and weaning weight of their calves. *J. Anim. Sci.*, 72:1155.
- Mohiuddin, G., 1993. Estimates of genetic and phenotypic parameter of some performance traits in beef cattle. *Anim. Breed. Abst.*, 61:495.
- Pang, H., M. F. Liu, M. Makarechian e R. T. Berg, 1994. Estimation of variance components due direct and maternal effects for growth traits of young beef bulls in four breed groups. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Guelph, Canada, 17:229.
- Quaas, R. L., M. A. Elzo e E. J. Pollak, 1985. Analysis of Simmental data: Estimation of direct and maternal genetic (co)variances. *J. Anim. Sci.*, 61 (Suppl. 1) :221.
- SAS, 1988. SAS/STAT User's Guide. 6.03 Edition, Statistical Analysis System, Cary, NC.
- Shi, M. J., 1993. "Estimation of direct and maternal variability of preweaning performance traits in beef cattle: Application to field data of French beef breeds". Dissertação de Doutoramento, INRA, França.
- Trus, D. e J. W. Wilton, 1988. Genetic parameters for maternal traits in beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 68:119.

- Van Vleck, 1970. Index Selection for Direct and Maternal Genetic Components of Economic Traits. *Biometrics*, 26:477.
- Van Vleck, D. S. Louis e J. I. Miller, 1977. Expected phenotypic response in weaning weight of beef calves from selection for direct and maternal genetic effects. *J. Anim. Sci.*, 44:360.
- Van Vleck, 1993. Selection index and introduction to mixed model methods. CRC Press, Florida, USA.
- Van Vleck, K. E. Gregory e G. L. Bennett, 1996. Direct and maternal covariances by age of dam for weaning weight. *J. Anim. Sci.*, 74:1801.
- Willham, R. L., 1963. The covariance between relatives for characters composed of components contributed by related individuals. *Biometrics*, 19:18.
- Willham, R. L., 1972. The role of maternal effects in animal breeding: III, Biometrical aspects of maternal effects in animals. *J. Anim. Sci.*, 35:1288.
- Williams, J. H., D. C. Anderson e D. D. Kress, 1979. Milk production in Hereford cattle. *J. Anim. Sci.*, 49:1443.
- Wright, H. B., E. J. Polak e R. L. Quaas, 1987. Estimation of variance and covariance components to determine heritabilities and repeatability of weaning weight in American Simmental cattle. *J. Anim. Sci.*, 65:975.
- Woodward, B. W., E. J. Pollak e R. L. Quaas, 1989. Adjusting weaning weights of Simmental beef calves to an age-constant basis. *J. Anim. Sci.*, 67:20.

IN SITU DEGRADABILITY OF DRY MATTER AND NEUTRAL DETERGENT FIBER FROM COAST CROSS HAY AND OF DRY MATTER FROM CORN IN BUFFALOES RECEIVING TWO ROUGHAGE:CONCENTRATED RATES

D.S.A. ABLAS, R.A. FRANZOLIN NETO, J.C.M.A. NOGUEIRA FILHO, E.A.L.A. TITTO e
A.M.F.B. PEREIRA

(Aceite para publicação em 9 de Abril de 2001)

ABSTRACT

This trial was conducted with four castrated adult male buffaloes of Mediterranean breed. The animals were submitted in two experimental periods at two diets: VOL80 (20 % concentrated and 80 % roughage) and CON80 (80 % concentrated and 20 % roughage). The dry matter (MS) and the neutral detergent fiber (NDF) degradability was valued from Coast cross hay and also the dry matter degradability from grain corn. The results showed that the dry matter and neutral detergent fiber degradability were higher in VOL80 than CON80.

Key-words: buffaloes, corn, degradability, dry matter, fiber, hay, nutrition, rumen

DEGRADABILIDADE IN SITU DA MATÉRIA SECA E FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO DE FENO DE COAST CROSS E DA MATÉRIA SECA DE MILHO EM BÚFALOS RECEBENDO DUAS PROPORÇÕES DE VOLUMOSO:CONCENTRADO

RESUMO

No presente trabalho utilizaram-se quatro búfalos machos, adultos, da raça Mediterrâneo, fistulados no rúmen. Os animais foram alimentados, em dois períodos experimentais, com duas dietas diferentes: VOL80 (20 % de concentrado e 80 % de volumoso) e CON80 (80 % de concentrado e 20 % de volumoso). Foi efectuada a avaliação da degradabilidade da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (NDF) do feno de Coast cross e da MS do milho em grão. Os resultados mostraram que a degradabilidade da MS e da NDF foi mais elevada no tratamento VOL80 do que no tratamento CON80.

Palavras-chave: búfalos, degradabilidade, feno, fibra, matéria seca, milho, nutrição, rúmen

INTRODUÇÃO

Actualmente, o Brasil apresenta um dos maiores rebanhos bubalinos do mundo ocidental, contando com aproximadamente 3.000.000 de animais. Metade encontra-se no estado do Pará e o restante está distribuído pelo país. Os búfalos, devido à

sua resistência e boa adaptação ao clima tropical podem ser criados tanto nas regiões Norte e Nordeste como nas regiões Sul e Sudeste, sem prejuízo de sua produção, aproveitando muito bem as pastagens nativas de cada local. Estas características tornam o búfalo um animal interessante do ponto de vista zootécnico, justificando as pesquisas que têm sido efectuadas na área de bubalinocultura.

O búfalo é conhecido como um animal que apresenta grande rusticidade no aproveitamento de alimentos volumosos fibrosos, embora a informação científica sobre a sua nutrição em diversos sistemas de alimentação seja escassa. Na maioria dos sistemas de produção de ruminantes, são utilizados na formulação de dietas vários tipos de alimentos. A combinação correcta dos alimentos pode melhorar a eficiência da utilização da alimentação para cada tipo animal.

A relação volumoso:concentrado estabelece o potencial de produtividade animal, juntamente com as suas características genéticas, principalmente, pelo nível energético da dieta. A adição acentuada de grão na dieta de ruminantes promove alterações no ambiente ruminal, com modificações na dinâmica e na população microbiana e, conseqüentemente, na digestão e fermentação dos nutrientes. O conhecimento dos parâmetros ruminais em bubalinos nestas condições é de grande importância na definição de estratégias de alimentação para uma melhor eficiência produtiva.

Dado que os grãos são ricos em amido, o seu uso em níveis moderados a elevados na dieta, pode conduzir a uma redução na digestão da fibra (Chase e Hibberd, 1987). Aparentemente, apesar dos mecanismos através dos quais os hidratos de carbono não estruturais interactivam na redução da fibra não estarem completamente esclarecidos, o provável mecanismo principal para a redução da digestão de fibra in vivo é a diminuição da actividade celulolítica, devido às condições de acidose ruminal associadas a uma rápida fermentação do amido.

Mertens e Loften (1980) referem que a adição de amido à dieta pode alterar a cinética da digestão da fibra, mesmo em pH mais elevado. Estudos realizados in vitro da digestão da fibra, com pH de 6,8, observou-se que quantidades crescentes de amido provocaram um aumento linear no tempo de colonização, sem alteração da taxa de degradação da fibra ou da degradabilidade potencial. Estes autores sugeriram que a cinética da digestão da fibra podia ser alterada pelas mudanças da taxa de degradação, no tempo de colonização, na degradabilidade potencial de NDF ou ainda da combinação dos três mecanismos.

Segundo Huntington e Givens (1995), a interação entre hidratos de carbono fermentescíveis e os mais lentamente degradáveis pode resultar na completa degradabilidade para componentes individuais. Estes efeitos são os chamados

“efeitos associativos” (Oliveros *et al.*, 1989; Ørskov e Ryle, 1990), os quais podem ser positivos ou negativos. Siddons e Paradine (1981), Castrillo *et al.* (1992) e Petit (1992) também observaram um aumento da degradabilidade da proteína (N) de diversos suplementos protéicos, quando as dietas apresentaram maior quantidade de forragem do que de concentrado; embora as diferentes proporções de concentrado e volumoso não tivessem efeito na degradabilidade efetiva da MS.

Chademana e Offer (1990) observaram que a degradação do feno e o pH ruminal são inversamente proporcionais à quantidade de concentrado da dieta, ou seja, quanto mais concentrado na dieta menor é a degradabilidade da MS e menor o pH).

Ganev *et al.* (1979) e Lindberg (1981) encontraram um decréscimo na degradação da MS em sacos, de acordo com o aumento do conteúdo de cereal na dieta basal e sugeriram que amostras com conteúdo elevado de parede celular eram mais susceptíveis à degradabilidade ruminal.

Masucci *et al.* (1997), num estudo efectuado com búfalos e ovelhas, demonstraram que a fracção solúvel, a fracção insolúvel potencialmente degradável e a taxa de degradação/h em dietas com 60% de concentrado foram maiores do que nas dietas com 40 e 20% de concentrado, especialmente em búfalos. Os mesmos autores observaram que quanto menor é a proporção volumoso: concentrado, maiores são os valores da fracção insolúvel potencialmente degradável e da degradabilidade efetiva.

Ørskov e Ryle (1990) sugerem que a técnica *in situ* pode ser uma importante ferramenta para estudar os efectuados associativos sobre os valores de degradabilidade dos alimentos, porque esta técnica parece ser mais susceptível às alterações na composição da dieta. Devem ser tomados cuidados para assegurar que os valores de degradabilidade de alimentos fornecidos possam ser significativos.

O objectivo do presente trabalho foi o de avaliar o metabolismo ruminal em búfalos alimentados com duas dietas opostas, uma elevada em volumoso (80% MS) e outra em concentrado (80% MS) através da determinação da degradabilidade de nutrientes do feno de Coast-cross em duas granulometrias (2 e 4 mm) e do milho em grão quebrado (retido em peneira de 2 e 1 mm); pH, teor em amonia e taxa de passagem do líquido ruminal.

MATERIAIS E MÉTODOS

A experiência foi realizada nas instalações do Estábulo Experimental do Campus de Pirassununga da Universidade de São Paulo. Foram utilizados 4 búfalos machos, adultos, da raça Mediterrâneo com fístulas ruminais. Os animais

permaneceram separados com disponibilidade individual de cocho de cimento, permitindo avaliar o consumo de alimento através da sua pesagem e das sobras no cocho, e de bebedouro automático.

O delineamento experimental adoptado foi casuístico com repetição no tempo, onde todos os animais foram submetidos aos dois tratamentos em dois períodos. Os tratamentos consistiram em 2 dietas com duas diferentes relações volumoso:concentrado: VOL80 (20% de concentrado e 80% de volumoso) e CON80 (80% de concentrado e 20% de volumoso).

No Quadro I observam-se as proporções de ingredientes utilizadas nos tratamentos.

QUADRO I – COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DOS INGREDIENTES COM BASE NA MATÉRIA SECA.

Nutrientes	Ingredientes		
	Feno de coast-cross	Milho em grãos	Farelo de soja
Matéria seca	89,45	88,99	89,00
Proteína bruta	5,96	10,13	50,18
NDF	86,11	18,07	16,00

As dietas integravam feno de coast-cross (volumoso) e milho em grão inteiro (volumoso). A quantidade de dieta fornecida foi calculada em função do consumo durante o período de adaptação, de forma a não existirem sobras. Durante o arração, volumoso e concentrado foram fornecidos simultaneamente, com água até à saciedade. Os ingredientes das dietas foram pesados em balança electrónica (Gehaka), com capacidade para 150 kg e sensibilidade de 100 g.

O primeiro período experimental foi iniciado no dia 02/10/98 e teve duração de 31 dias. Com a finalidade de obtermos uma maior padronização dos microrganismos ruminais, foram realizadas duas reinoculações do conteúdo ruminal em todos os animais. Para tal, foram retirados 2 l da mistura de líquido e sólido do rúmen de cada animal, sendo colocados todos num mesmo balde. Após homogeneização, foi retornada a mesma quantidade retirada em cada animal.

Durante os 6 primeiros dias, os animais receberam dietas com idênticas proporções de volumoso e concentrado e no quarto dia foi efectuada a primeira reinoculação do conteúdo ruminal. No sétimo dia, foi efectuada a segunda reinoculação e tiveram início os tratamentos experimentais com os búfalos 1 e 2 recebendo o tratamento VOL80 e os búfalos 3 e 4, o tratamento CON80. O segundo período experimental teve início no dia 04/11/98, seguindo-se a mesma metodologia utilizada no primeiro período, invertendo-se os tratamentos nos animais, ou seja, animais 1 e 2 (CONC80) e 2 e 3 (VOL80).

Os animais foram alimentados diariamente em duas refeições, às 7 e às 15 h. O concentrado e o volumoso foram colocados simultaneamente no cocho, de forma a possibilitar a ingestão de todo o alimento. As sobras foram recolhidas antes da próxima alimentação e pesadas para o cálculo do consumo. Entre o 25 e o 30o dias de experiência de cada uma das fases, foi efectuada a avaliação da degradabilidade. Todas as medidas e coletas foram realizadas na parte da manhã, antes da alimentação dos animais.

A degradabilidade da MS e NDF do feno de Coast cross e da MS do milho em grão foram determinadas através da técnica de sacos de náilon *in situ*, conforme descrito por Ørskov *et al.* (1980). Para tal, foram utilizados sacos de náilon, com porosidade de 53 m (11 x 20 cm), amarrados a pesos para se manterem submersos no conteúdo ruminal.

O milho e o feno colocados nos sacos eram dos mesmos ingredientes utilizados nas dietas. Durante a incubação, os sacos foram presos à cânula ruminal através de um fio de náilon (50 cm), permitindo a sua livre movimentação no interior do rúmen.

O feno foi moído num moinho do tipo Wiley com peneiras de 2 e 4 mm (respectivamente, feno 2 e feno 4). O milho, quebrado grosseiramente em moinho tipo martelo, de grande porte, foi passado por três peneiras de solo (Telastem). O material que passou pela peneira de 4,76 mm (peneira Tyler 4, USBS 4) foi novamente utilizado em peneira de 2 mm (Tyler 9, USBS 10) e o material retido foi chamado de milho 2. O material que passou pela malha de 2 mm foi novamente peneirado em 1mm (Tyler 16, ABNT 18) e o material retido nesse processo foi chamado de milho 1.

Os sacos, previamente identificados, foram pesados numa balança analítica de precisão e receberam aproximadamente 8 g da amostra de feno de Coast Cross picado ou 11 g da amostra de milho.

As amostras de feno e de milho foram incubadas durante 6, 12, 24, 48 e 72 h no rúmen. Imediatamente após a retirada dos sacos, nos tempos pré-determinados, foram lavados à mão em baldes até que o líquido de lavagem ficasse incolor, sendo colocados em estufa a 65 °C durante 72 h e, posteriormente, foram pesados e submetidos a análises bromatológicas. As amostras obtidas após a incubação foram processadas em moinho tipo Wiley numa peneira de 1 mm.

A curva de desaparecimento da MS foi determinada pela diferença de pesagens dos sacos antes e após a incubação, com base na amostra seca a 100 °C por no mínimo 4 h.

O desaparecimento do NDF do feno foi calculado da mesma forma, sendo a

diferença entre o peso do saco antes da incubação, ou pós-incubação, e o peso do saco vazio multiplicados pelas respectivas percentagens de NDF.

Os valores da degradabilidade foram ajustados pelo modelo de Ørskov e McDonald (1979). Os parâmetros do modelo de regressão não linear pelo método de quadrados mínimos foram obtidos através do procedimento não linear (PROC NLIN), do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais apresentaram um peso médio de 635 kg no final da experiência e o consumo médio de MS de 56,96 g kg^{0,75} na dieta com 80 % de volumoso e 50.01 g kg^{0,75} com 80% de concentrado.

Verificou-se uma redução da degradabilidade da MS no tratamento com 80% de concentrado (Quadros II e IV). Estes dados estão de acordo com os encontrados por Ganev *et al.* (1979), Lindberg (1981) e Chademana e Offer (1990), os quais registraram um decréscimo da degradação da MS com o aumento da proporção de concentrado, sugerindo que maiores proporções de fibra sofrem maior degradabilidade ruminal, contrariamente aos resultados de Masucci *et al.* (1997).

QUADRO II – CARACTERÍSTICAS DA DEGRADABILIDADE IN SITU (%) DA MATÉRIA SECA E FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO DO FENO DE COAST CROSS COM GRANULOMETRIA DE 2 mm.

	Tratamentos		Teste F ¹
	VOL 80	Con 80	
MATÉRIA SECA			
a ²	8,70	12.94	NS
b ³	61,40	34.88	*
c ⁴	0,0460	0.0469	NS
DP ⁵	70,10	47.82	*
DE2 ⁶	51,02	36.06	*
DE4 ⁶	41,11	30.70	*
DE8 ⁶	30,84	25.26	*
FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO			
a ²	3,43	3.89	NS
b ³	66,09	40.54	*
c ⁴	0,0507	0.0660	NS
DP ⁵	69,52	44.44	*
DE2 ⁶	50,49	34.48	*
DE4 ⁶	40,05	28.76	*
DE8 ⁶	28,836	22.17	NS

1 Teste F = * diferença significativa em P<0,05; NS= Não significativo; a² = fracção solúvel, b³ = fracção insolúvel potencialmente degradável; c⁴ = taxa de degradação/h; DP⁵ = Degradabilidade efectiva estimada assumindo taxa de passagem de 0,02, 0,04 e 0,08/h, respectivamente.

Também se observou uma redução da degradabilidade da fibra em detergente neutro (Quadro III), o que está de acordo com os resultados de Chase e Hibberd (1987). Estes autores salientam que níveis moderados a elevados de grão rico em amido podem reduzir a digestão da fibra. Em contrapartida, Mertens e Loften (1980) não encontraram alteração na taxa de degradação da fibra quando utilizaram quantidades crescentes de amido.

QUADRO III – CARACTERÍSTICAS DA DEGRADABILIDADE *IN SITU* (%) DA MATÉRIA SECA E FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO DO FENO DE COAST CROSS COM GRANULOMETRIA DE 4 mm.

	Tratamentos		Teste F ¹
	VOL 80	Con 80	
MATÉRIA SECA			
a ²	7,46	14,48	NS
b ³	62,80	59,41	NS
c ⁴	0,04098	0,03608	NS
DP ⁵	70,26	73,89	NS
DE2 ⁶	48,59	52,36	NS
DE4 ⁶	38,33	42,35	NS
DE8 ⁶	28,17	32,73	NS
FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO			
a ²	-7,15	4,201	NS
b ³	73,52	45,51	*
c ⁴	0,06145	0,03119	NS
DP ⁵	66,38	49,71	*
DE2 ⁶	47,50	31,54	*
DE4 ⁶	36,66	23,87	*
DE8 ⁶	24,39	16,85	NS

1 Teste F = * diferença significativa em P<0,05, NS = Não significativo; a² = fracção solúvel; b³ = fracção insolúvel potencialmente degradável, c⁴ = taxa de degradação 7h; DP⁵ = Degradabilidade Potencial, DE2⁶, DE4⁶ e DE8⁶ (= degradabilidade efectiva estimada assumindo taxa de passagem de 0,02, 0,04 e 0,08/h, respectivamente).

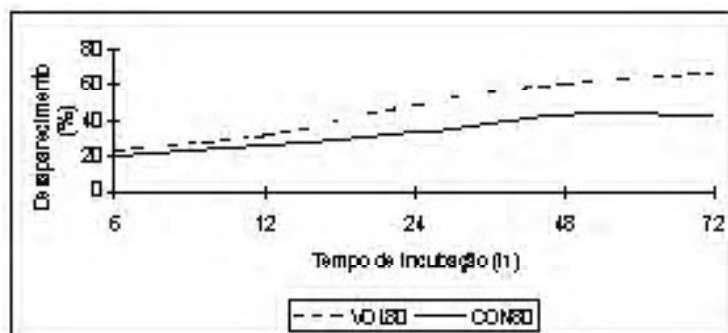


Figura 1. Médias dos desaparecimentos da matéria seca de feno de Coast cross com granulometrias de 2 e 4mm, em sacos de nylon no rúmen.

QUADRO IV - CARACTERÍSTICAS DA DEGRADABILIDADE *IN SITU* (%) DA MATÉRIA SECA DO GRÃO DE MILHO QUEBRADO RETIDO EM PENEIRAS DE 1mm (milho 19 e 2 mm 8 milho 2).

	Tratamentos		Teste F ¹
	VOL 80	Con 80	
MATÉRIA SECA - MILHO 1			
a ²	3,11	8,82	NS
b ³	99,98	81,95	*
c ⁴	0,04869	0,04254	NS
DP ⁵	103,10	90,77	NS
DE2 ⁶	73,68	63,76	NS
DE4 ⁶	57,75	50,37	NS
DE8 ⁶	40,82	36,85	NS
MATÉRIA SECA - MILHO 2			
a ²	--3,90	6,78	NS
b ³	106,05	80,37	*
c ⁴	0,0419	0,03377	NS
DP ⁵	102,14	87,14	NS
DE2 ⁶	67,66	54,48	*
DE4 ⁶	50,17	41,36	*
DE8 ⁶	32,45	29,28	NS

1 Teste = F = * diferença significativa em P<0,05, NS = Não significativo; a² = fracção solúvel; b³ = fracção insolúvel potencialmente degradável, c⁴ = taxa de degradação/h; DP⁵ = degradabilidade potencial; DE2⁶, DE4⁶ e DE8⁶ = degradabilidade efectiva estimada assumindo taxa de passagem de 0,02, 0,04 e 0,08/h, respectivamente.

Nas figuras 1, 2 e 3 é possível observar que os desaparecimentos de MS e NDF foram sempre maiores para a dieta com 80% de volumoso, tanto para o feno de Coast cross quanto para os grãos de milho.

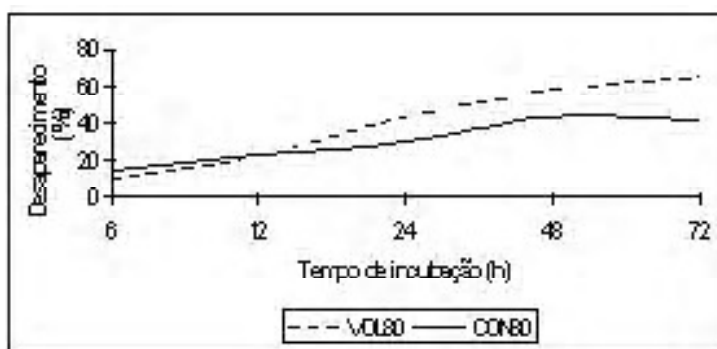


Figura 2. Médias dos desaparecimentos da fibra em detergente neutro de feno de *Coast cross* com granulometrias de 2 e 4mm, em sacos de nylon no rúmen.

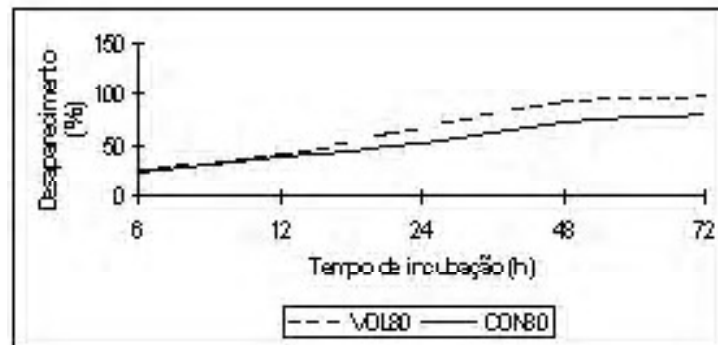


Figura 3. Médias dos desaparecimentos da matéria seca do milho em grãos retidos em peneiras de 1 e 2mm, em sacos de nylon no rúmen.

BIBLIOGRAFIA

- CASTRILLO, C., LAINEZ, M., CASA, J. e GUADA, J. A., 1992. The effect on increasing the proportion of barley straw in pelleted concentrate diets given to lambs on rumen outflow rate and degradation of protein supplements. *Animal Production*, 54:59-66.
- CHADEMANA, I. e OFFER, N. W., 1990. The effect of dietary inclusion of yeast culture on digestion in the sheep. *Animal Production*, 50(3):483-489.
- CHASE JR., C. C. e HIBBERD, C. A., 1987. Utilization of low-quality native grass hay beef cows fed increasing quantities of corn grains. *Animal Science*, 65(2):556-557.
- GANEV, G., ØRSKOV, E. R. e SMART, R., 1979. The effect of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen. *Agricultural Science*, 93(3):651-656.
- HUNTINGTON, J. A. e GIVENS, D. I., 1995. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. *Nutrition Abstract Reviews (series B)*, 65(2):64-93.
- LINDBERG, J. E., 1981. The effect of sample size and sample structure on the degradation of dry matter, nitrogen and cell wall in nylon bags. *Swedish Agricultural Research*, 11(2):71-76.
- MASUCCI, F., DI FRANCA, A. e PROTO, V., 1997. In vivo digestibility, rate of particulate passage and dry matter rumen degradability in buffaloes and sheep. *Proc. 5th World Buffalo Congress. Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli*, pp. 296-301.

- MERTENS, D.R., LOFTEN, J.R., 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. *Dairy Science*, 63:1437–46.
- OLIVEROS, B. A., KLOPFENSTEIN, T. J., GOLDEKEN, F. K., NELSON, M. L. e HAWKINS, E. E., 1989. Corn fiber as na energy supplement in high-roughage dietys fed to steers and lambs. *Animal Science*. 67(7):1784-1792.
- ØRSKOV, E. R. e RYLE, M., 1990. *Energy Nutrition in Ruminants*. London, Elsevier Applied Science, 149 p.
- PETIT, H. V., 1992. *In situ* degradability of feed ingredients at two proportions of concentrate. *Annales de Zootechnie*. 41(2):145-152.
- SIDDONS R. C. e PARADINE, J., 1981. Effects of diets on protein degrading activity in the sheep rumen. *Sci. Food Agriculture*. 32:973-981.

RUMINAL IN SITU DEGRADABILITY IN ZEBU CATTLE AND BUFFALOES SUBMITTED TO ROUGHAGE AND CONCENTRATED DIETS

J. C. M. NOGUEIRA FILHO^a, M. E. M. OLIVEIRA^b, L. R. A. TOLEDO^a, L. VELLOSO^a, E. A. L. TITTO^a, D. S. ABLAS^a e A. M. F. PEREIRA^c

^aDepartamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo – FZEA/USP – Av. Duque de Caxias Norte, 225, C. Postal 23-13635-900 Pirassununga, SP - Brasil; ^bDepartamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo – ICB/USP – São Paulo – SP - Brasil; ^cDepartamento de Zootecnia, Universidade de Évora, Portugal

(Aceite para publicação em 9 de Abril de 2001)

ABSTRACT

The degradabilities of DM and CP and NDF were evaluated through “in situ” nylon bags techniques on the rumen of four zebu cattle and four buffalo castrated males with cannulae fistulated in a complete randomized design with repetition in the time. The degradabilities revealed that the buffaloes take advantage when received roughage of poor quality than the zebu cattle.

Key Words: buffaloes, degradability, fiber, dry matter, protein, rumen, zebu cattle

DEGRADABILIDADE IN SITU NO RÚMEN DE ZEBUÍNOS E BUBALINOS SUBMETIDOS A DIETAS COM VOLUMOSOS E CONCENTRADOS

RESUMO

Foi estudada a degradabilidade da MS, PB e NDF através da técnica de sacos de nylon no rúmen de 4 zebuínos e 4 bubalinos, machos castrados fistulados. Os animais foram alimentados com dietas idênticas de feno de gramínea (65 %) e concentrado (35 %), tendo-se utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com repetição no tempo. Os valores de degradabilidade revelaram que os bubalinos aproveitam melhor o alimento volumoso de baixa qualidade do que os zebuínos.

Palavras-chave: bubalinos, degradabilidade, fibra, matéria seca, proteína, rúmen, zebuínos

INTRODUÇÃO

O maior ou menor aproveitamento da fibra e proteína pelos ruminantes, dependem da concentração de microrganismos ruminais e a sua capacidade de adesão e penetração no substrato, (Hungate, 1966; Latham, 1980; Jouany *et al.*, 1981 a,b; Jouany e Senaud, 1982; Orpin, 1985; Bonhomme, 1990). As bactérias

e os aminoácidos livres do líquido ruminal são fontes importantes de N para os protozoários ciliados, potencializando o “pool” metabólico no processo de degradação ruminal (Onodera Kandatsu, 1970; Bonhomme-Florentin, 1974; Coleman, 1980, 1986; Wallace e MacPherson, 1987; Bonhomme, 1990).

Nogueira Filho *et al.* (1998) concluíram que os zebuínos apresentam no rúmen maior concentração média total de protozoários ciliados do que os bubalinos, demonstrando melhores condições de adaptação ruminal a esses unicelulares. De acordo com Franzolin *et al.* (1997), as dietas exclusivamente constituídas por silagem de sorgo e feno de alfafa em búfalos, conduzem a uma fauna ruminal semelhante, embora a degradabilidade *in situ* da MS e PB do feno de alfafa fossem superiores, ocorrendo maior solubilidade e menor taxa de degradação na silagem.

Mc Allister *et al.* (1994) enfatizaram que os tecidos de forragens e grãos de cereais são protegidos por uma cutícula que dificulta a adesão, penetração e conseqüentemente a degradação. Quando a digestão da parede celular das plantas é efectuada, os polissacáridos são removidos, e os ácido fenólicos acumulam, formando uma placa de protecção dos tecidos a possíveis ataques. Deste modo, os ruminantes que possuem uma microflora com esterases feruloil e coumaril, necessárias para romper estes dímeros fenólicos, poderiam ter um maior impacto na digestão da parede celular. No caso da matriz proteica do endosperma do milho, a resistência é muito elevada à adesão e penetração, ocorrendo uma grande passagem do amido para o intestino delgado.

Neste sentido, a transformação da integridade das plantas pode ter um efeito profundo sobre os processos microbianos de adesão e penetração e, por último, na eficiência com que os ruminantes degradam um alimento.

Segundo Giger-Reverdim *et al.* (1991) e Zhao *et al.* (1993) as actividades celulolíticas no rúmen decrescem nos animais com níveis baixos de volumosos, provocando diminuição no pH do líquido ruminal e, conseqüentemente, uma diminuição drástica dos microrganismos que degradam as fibras.

Sefrin (1994) verificou que a degradabilidade da MS e NDF do feno de capim “coast-cross” foi mais baixa no tratamento com menor porção de volumoso (40%) em relação aos teores de 60, 80 e 100%, e nos tempos de incubação ruminal igual ou superiores à 24 h, utilizando bovinos mestiços europeu vs. zebú.

Valadares Filho *et al.* (1990) referem valores de degradabilidade efectiva de 37,0 e 53,8%, respectivamente da MS e PB do farelo de algodão com 32% de PB, considerando uma taxa de passagem de 5% por hora. Sonksen (1994) indica que a degradabilidade da MS e PB do farelo de algodão num período de 24 h, recomendando que em trabalhos sobre degradação da proteína do rúmen, o tempo mínimo de incubação seja igual a 48 h.

Castillo *et al.* (1993) encontraram degradabilidades aparentes da MS e PB do farelo de algodão de 55,3 e 84,3% e de 84,8 e 57,7% para as mesmas frações em fubá de milho, em tempo de incubação de 48 h, enquanto Aroeira *et al.* (1993) detectaram degradabilidade efectiva de 49,3 e 61,8% para MS e PB do farelo de algodão, com taxas de degradação, respectivamente de 4,0 e 4,7% por hora.

Este ensaio teve por objectivo avaliar as degradabilidades da MS, PB e NDF, através da técnica de sacos de nylon *in situ*, em zebuínos Nelore e bubalinos da raça Mediterrâneo, alimentados com feno de capim “coast-cross” e concentrado.

MATERIALE MÉTODOS

A experiência foi realizada no Campus Administrativo de Pirassununga, S.P., na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Foram utilizados oito bovídeos machos, quatro bovinos da raça Nelore e quatro bubalinos da raça Mediterrâneo, possuindo cânulas ruminais. Os zebuínos tinham um peso médio de 530 \pm 20 kg e três anos de idade, enquanto os bubalinos tinham 520 \pm 14 kg e dois anos de idade.

Os bovídeos foram alojados em baias individuais num estábulo experimental de alvenaria, com cochos e bebedouros automáticos individualizados, onde permaneceram confinados durante o ensaio, recebendo alimento até à saciedade às 8 e 16 h.

A dieta era constituída por feno de capim “coast-cross” (*Cynodon dactylon* – 65%), concentrado (20% de fubá de milho e 15% de farelo de algodão), e sal mineral no cocho à vontade. A dieta tinha 9,9% de proteína bruta (PB), 88,8% de matéria seca (MS), e 2,4 Mcal/kg de energia digestível (ED). O consumo foi de 2,0% do peso vivo animal, equivalente a 10,60 kg de dieta por dia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, num esquema de parcelas subdivididas, sendo a espécie (bovina e bubalina) o tratamento nas parcelas e a degradabilidade da MS e PB do farelo de algodão e fubá de milho executadas em sete tempos de incubação (0; 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 24,0; e 48,0 h) o tratamento nas subparcelas. A degradabilidade da MS, PB e NDF do feno de capim “coast-cross” foram executadas em nove tempos de incubação (0; 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 24,0; 48,0; 72,0; e 96,0 h).

Quando a interacção espécie x tempo foi estatisticamente significativa, procedeu-se à determinação de uma curva de desaparecimento de cada uma das frações analisadas, para cada uma das espécies animais, segundo o modelo matemático proposto por Orskov e Mc Donald (1979). A degradabilidade efectiva foi calculada de acordo com Energy (1993). Para avaliação dos dados utilizou-se a análise de variância com o módulo GLM do SAS (1987).

Cada período experimental teve a duração de seis semanas, sendo as quatro primeiras o período de adaptação dos animais à dieta e instalações; na sexta semana foi efectuada a prova de degradação, utilizando-se sacos de nylon. As amostras dos ingredientes foram moídas em peneiras de 2,0 mm e cada saquinho continha uma quantidade de aproximadamente 7,0 g. Após serem colocados no saco ventral do rúmen para sofrerem a incubação, foram retirados e lavados numa máquina semi-automática durante vinte minutos. Após secagem em estufa de ventilação forçada foram pesados.

As determinações de MS foram realizadas pelo método de secagem em estufa de ventilação forçada à 65 °C por 72 h. A composição química dos componentes da dieta foi determinada de acordo com a metodologia do A.O.A.C. (1970).

A determinação da fibra (NDF), foi efectuada pela técnica de Goering e Van Soest (1970), e da PB pela técnica de microkjeldahl de acordo com A.O.A.C. (1970).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro I mostra a degradabilidade efectiva da MS e PB do farelo de algodão e do fubá de milho para ambas espécies animais, assim como as variáveis "a", "b" e "c" calculadas consoante Orskov e McDonald (1979).

QUADRO I - DEGRADABILIDADE EFECTIVA (Dg) DA MATÉRIA SECA E DA PROTEÍNA BRUTA DO FARELO DE ALGODÃO E DO FUBÁ DE MILHO NO RÚMEN DE ZEBUÍNOS E BUBALINOS.

Variáveis ¹	Matéria Seca				Proteína Bruta			
	Farelo de Algodão		Fubá de Milho ²		Farelo de Algodão		Fubá de Milho	
	Zebuínos	Bubalinos	Zebuínos	Bubalinos	Zebuínos	Bubalinos	Zebuínos	Bubalinos
a (%)	13,50	13,41	9,90		13,02	9,83	10,46	11,43
b (%)	58,52	40,95	80,74		69,03	70,06	90,78	75,81
c (%)	0,499	0,060	0,126		0,072	0,045	0,049	0,057
Dg (%)	65,22	29,12	87,04		47,64	37,06	49,11	45,62

1 Variáveis "a", "b" e "c" estimadas conforme Orskov e McDonald (1979).

2 Os valores 2a", "b" e "c" não foram individualizados para zebuínos e bubalinos, por não apresentarem diferenças significativas entre espécies animais.

Os resultados da degradabilidade da MS e PB do farelo de algodão e fubá de milho nos diferentes tempos de incubação no líquido ruminal de zebuínos e bubalinos e suas respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação (R²) estão ilustradas nas Figuras 1, 2, 3 e 4.

Da análise da Fig. 1 e do Quadro I, conclui-se que existem diferenças

significativas entre espécies animais, tempo de incubação e espécie em função do tempo ($p < 0,05$) na degradação da MS do farelo de algodão, o que permite concluir que os zebuínos tiveram melhor aproveitamento da MS do que os bubalinos ($P < 0,05$), conforme pode ser evidenciado pelo potencial de degradabilidade da equação de regressão (Fig. 1), onde os bubalinos apresentam valores de 54,36%, contra 72,02% dos zebuínos, embora os coeficientes de determinação (R^2) sejam bastante próximos, $R^2 = 0,94$ e $R^2 = 0,96$ respectivamente, para búfalos e Nelore (Fig. 1).

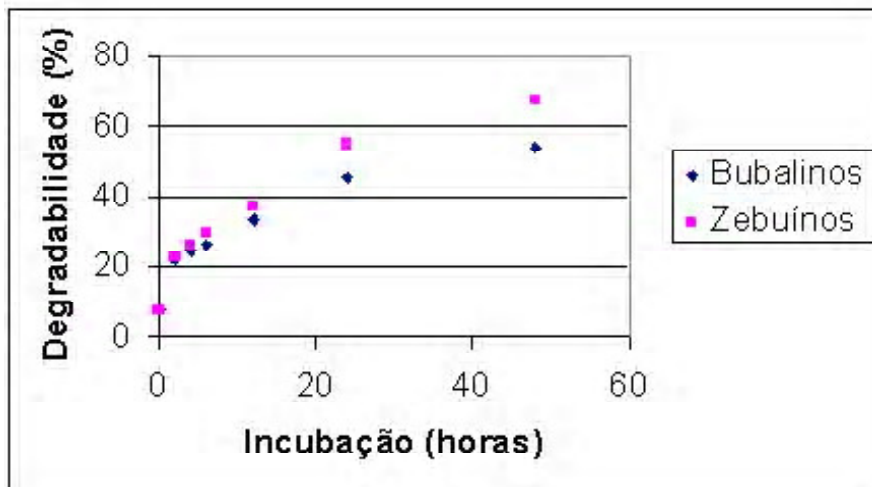


Figura 1. Degradabilidade da MS do farelo de algodão, em bubalinos (Mediterrâneo) e zebuínos (Nelore).

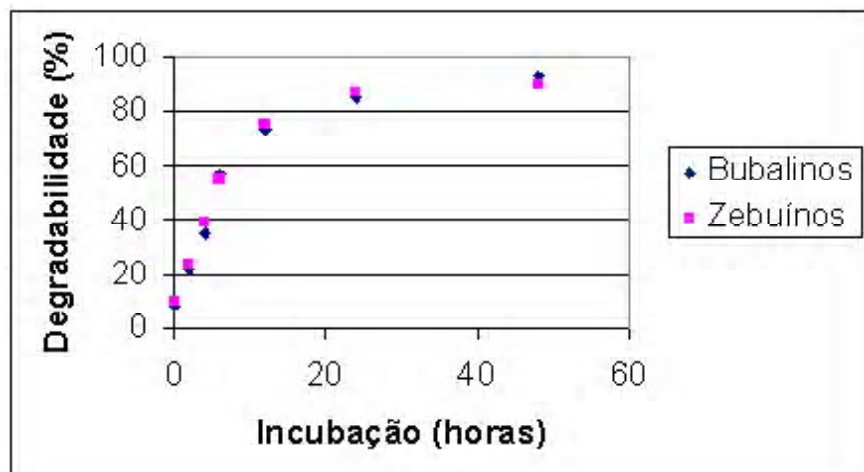


Figura 2. Degradabilidade da MS do fubá de milho, em bubalino (Mediterrâneo) e zebuínos (Nelore).

Os valores desta variável são superiores aos observados por Valadares Filho *et al.* (1990), Aroeira *et al.* (1993) e Castillo *et al.* (1993), para a MS do farelo de algodão, devido provavelmente ao maior tempo de incubação do presente trabalho (96 h), ao contrário das 72 h nos outros estudos citados.

A degradação da MS do fubá de milho (Fig. 2 e Quadro I) não apresentou diferença significativa entre espécies ($P > 0,05$), e entre espécies em função do tempo de incubação do alimento energético ($P > 0,05$), no entanto, esta significância foi observada em função do tempo de incubação ($P < 0,05$), pressupondo que ambas espécies de ruminantes aproveitaram de modo idêntico a MS deste ingrediente da dieta (potencial de degradabilidade igual a 90,64% e $R^2 = 0,99$ (Fig. 2). Castillo *et al.* (1993), observaram em vacas gestantes 7/8 holandês x zebú, para tempos de incubação de 48 e 72 h, valores de digestibilidade da MS do fubá de milho, muito semelhantes ao deste trabalho.

No Quadro I e Fig. 3 e 4 apresentam-se os valores da degradabilidade da PB do farelo de algodão e do fubá de milho, nos diversos tempos de incubação no líquido ruminal de zebuínos e bubalinos e suas respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2).

Na degradação da PB do farelo de algodão (Fig. 3), verifica-se que não existem diferenças significativas entre espécies animais ($P > 0,05$), mas sim entre espécies em função do tempo ($P < 0,05$), e no tempo de incubação ($P < 0,05$). Daqui pode-se concluir que em determinados momentos da degradação, os zebuínos foram superiores aos bubalinos no aproveitamento desta fracção do farelo de algodão, e que os Nelore degradam melhor a PB deste ingrediente do que os búfalos (Fig. 3), com potenciais de degradabilidade de 79,89 e 82,05%, respectivamente, para bubalinos e zebuínos e $R^2 = 0,98$ (búfalos) e 0,97 (Nelore) (Fig. 3).

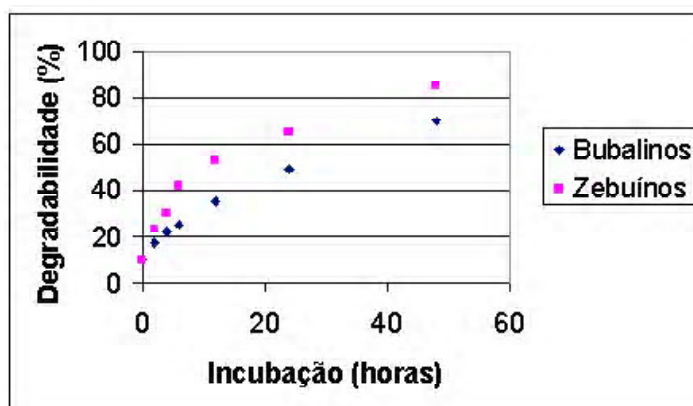


Figura 3. Degradabilidade da PB do farelo de algodão, em bubalinos (Mediterrâneo) e zebuínos (Nelore).

Da observação da Fig. 4 e Quadro I verifica-se que na degradação da PB do fubá de milho, existem diferenças significativas entre as duas espécies animais, tempo de incubação, e espécies em função do tempo ($P < 0,05$), de modo que os Nelore em 48 h degradaram mais a PB deste ingrediente que os bubalinos (91,16 contra 81,79%), aproveitando melhor esta fracção. Os potenciais de degradabilidade e os R2 em bubalinos e zebuínos, foram, respectivamente, 87,24 e 101,24% e $R^2 = 0,97$, em ambas espécies animais (Fig. 4). O potencial de degradabilidade do Nelore ultrapassou 100%, provavelmente devido a erros de determinação laboratorial. Também na degradabilidade da fracção protéica, os resultados encontrados para fubá de milho e farelo de algodão deste ensaio são superiores aos apresentados por Castillo *et al.* (1993).

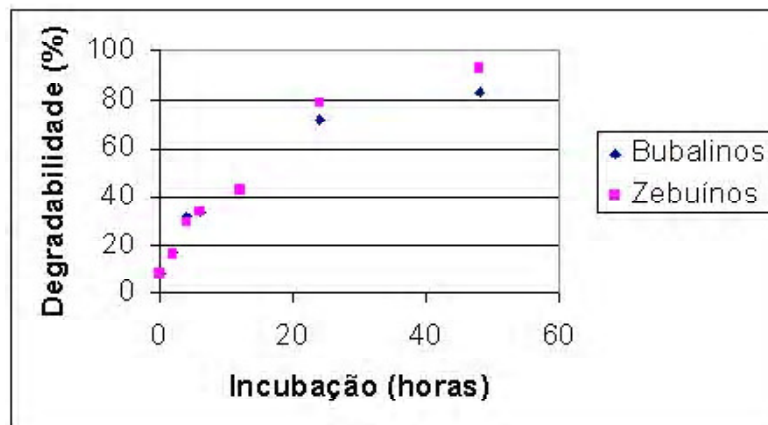


Figura 4. Degradabilidade da PB do fubá de milho, em bubalinos (Mediterrâneo e zebuínos (Nelore)).

O Quadro II e as Fig. 5, 6 e 7 mostram os valores da degradabilidade da MS, PB e NDF do feno de capim “coast-cross” nos diversos tempos de incubação no líquido ruminal de zebuínos e bubalinos e as respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2).

Da análise da Fig. 5 e Quadro II conclui-se que para a degradação da MS do feno de capim “coast-cross” verificam-se diferenças significativas entre as duas espécies de bovinos, tempo de incubação, e espécies em função do tempo ($P < 0,05$). Daqui conclui-se que os Nelore aproveitam menos a fracção MS do feno do que os búfalos, conforme potencial de degradabilidade (66,12 e 60,58%). Os valores de R^2 foram idênticos ($R^2 = 0,96$) em ambas as espécies animais (Fig. 5).

Sefrin (1994) também observou valores da degradabilidade da MS do feno

de capim "coast-cross", em bovinos cruzados holandes vs. zebú, semelhantes (62,91%) aos deste trabalho, em 96 h de incubação.

QUADRO II - DEGRADABILIDADE EFECTIVA (Dg) DA MATÉRIA SECA, DA PROTEÍNA BRUTA E FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO DO FENO DE CAPIM COAST-CROSS NO RÚMEN DE ZEBUÍNOS E BUBALINOS.

Variáveis ¹	MS do feno de "coast-cross"		PB do feno de "coast-cross"		NDF do feno de "coast-cross"	
	Zebuínos	Bubalinos	Zebuínos	Bubalinos	Zebuínos	Bubalinos
a (%)	12,08	11,31	8,28	6,47	10,15	9,52
b (%)	48,50	54,81	45,23	34,23	52,48	59,13
c (%)	0,043	0,041	0,093	0,106	0,056	0,083
Dg (%)	27,42	29,15	34,32	27,30	32,47	42,20

1 Variáveis "a", "b" e "c" estimadas conforme Orskov e McDonald (1979).

Para a degradação da PB do feno de capim "coast-cross" (Fig. 6 e Quadro II) nota-se diferenças significativas entre espécies animais, tempo de incubação, e entre espécies em função do tempo ($P < 0,05$), concluindo-se que a fracção PB do feno foi melhor utilizada pelos zebuínos do que pelos bubalinos, de acordo com os potenciais de degradabilidade de 40,70% em búfalos e 53,51% em Nelore, embora o R2 dos zebuínos fosse menor do que nos bubalinos ($R^2 = 0,95$ e $0,98$) (Fig. 6). Estes valores são inferiores aos encontrados por Sefrin (1994), cuja degradabilidade da fracção PB do feno de capim coast-cross às 96 h foi de 75,19%, provavelmente pelo teor de PB do feno utilizado ter sido bem mais elevado (12,29%).

Quanto à degradação do NDF do feno de capim "coast-cross" (Quadro II e Fig. 7) observou-se diferenças significativas entre espécies animais, tempo de incubação, e espécies em função do tempo ($P < 0,05$). Após 35 h de incubação os bubalinos aproveitaram melhor a fracção NDF do feno do que os zebuínos, podendo esta informação ser corroborada pelos potenciais de degradabilidade dos búfalos (68,65%) e dos Nelore (62,63%); os R2 em ambas espécies animais foram idênticos ($R^2 = 0,98$) (Fig. 7).

Há diferenças marcantes entre os resultados deste trabalho e os de Sefrin (1994), cujo valor foi 58,49% de NDF degradada com 96 h de incubação. Contudo, o potencial de degradabilidade (64,20%), encontrado por Sefrin (1994) é muito semelhante aos resultados deste ensaio.

A expressiva presença de protozoários ciliados observados no decurso da experiência (Nogueira Filho *et al.*, 1998), onde os principais géneros estavam representados, tiveram papel preponderante na degradação das frações que integram a fibra e a proteína dos constituintes da dieta (Hungate, 1966; Latham,

1980; Jouany *et al.*, 1981 a,b; Jouany e Senaud, 1982; Orpin, 1985; Bonhomme, 1990). Este papel foi mais expressivo quando na presença de bactérias e aminoácidos livres do líquido ruminal, que colaboram nas necessidades de N dos protozoários ciliados, contribuindo para a degradação ruminal (Onodera e Kandatsu, 1970; Bonhomme-Florentin, 1974; Coleman, 1980, 1986; Wallace e MacPherson, 1987; Bonhomme, 1990). Provavelmente, as modificações dos ingredientes da dieta (picagem do feno, moagem dos cereais) proporcionam uma maior adesão microbiana ao substrato e, conseqüentemente, uma melhor degradação (McAllister *et al.*, 1994).

CONCLUSÕES

Os valores da degradabilidade indicam que os bubalinos aproveitam melhor o alimento volumoso de baixa qualidade quando comparados com os zebuínos.

BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. Association of Official Agricultural Chemists, (1970). Official Methods of Analysis. 12th Ed. Washington D.C., 1094 p.
- AROEIRA, L.J.M., SILVEIRA, M.I., LIZIEIRE, R.S., MATOS, L.L. e FIGUEIRA, D.G., 1993. Degradabilidade no rúmen e taxa de passagem de cana-de-açúcar mais uréia, do farelo de algodão e do farelo de arroz em novilhos mestiços Europeu vs. Zebú. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 22:552-64.
- BONHOMME-FLORENTIN, A., 1974. Contribution à l'étude de la physiologie des ciliés Entodiniomorphes endocommensaux des ruminants et des équidés. Ann. Sci. Nat. Zool., 16:155-283.
- BONHOMME, A., 1990. Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. Anim. Feed Sci. Technol., 30:203-66.
- CASTILLO, A.A.M., VALADARES FILHO, S.C., SILVA, J.F.C., LEÃO, M.I. e Castro, A.C.G., 1993. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da proteína bruta de alimentos, utilizando-se a técnica dos sacos de náilon, em vacas gestantes alimentadas com feno (80%) e concentrados (20%). Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 22:89-98.
- COLEMAN, G.S., 1980. Rumen ciliate protozoa. Adv. Parasitol., 18:121-73.
- COLEMAN, G.S., 1986. The distribution of carboxymethylcellulase between fractions taken from the rumens of sheep containing protozoa or one of five different protozoal populations. J. Agric. Sci., 106:121-7.

- FRANZOLIN, R., COSTA, R.M., FRANZOLIN, M.H.T., NOGUEIRA FILHO, J.C.M. e SCHALCH, E., 1997. Avaliação da fauna e degradabilidade no rúmen de búfalos sob dietas exclusivas de silagem de sorgo e de feno de alfafa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 49(6):709-18.
- GIGER-REVERDIN, S., SAUVANT, D., NAJAR, T. e RIGAUULT, M., 1991. Diet influence on biological degradation in sacco of cell walls by ruminants. *An. Feed Sci. Technol.*, 32:233-7.
- GOERING, H.K., VAN SOET, P.J., 1970. Forage fiber analysis apparatus, reagents, procedures and some applications (s.1):USDA, Agriculture Research Science. 20 p. (Agriculture Handbook, 379).
- HUNGATE, R.E., 1966. The rumen and its microbes. New York, Academic Press, 533 p.
- JOUANY, J.P. e SENAUD, J., 1982. Influence des ciliés du rumen sur la digestion de différents glucides chez le mouton. I. Utilisation des glucides pariétaux (cellulose et hémicellulose) et de l'amidon. *Reprod. Nutr. Dev.*, 22:735-52.
- JOUANY, J.P., SENAUD, J., GROLIÈRE, C.A., THIVEND, P. e GRAIN, J., 1981a. Influence du traitement par la soude et de l'inoculation du cilié *Polyplastron multivesiculatum* dans le rumen sur la digestion d'un régime riche en glucides pariétaux. *Reprod. Nutr. Dev.*, 21:866-70.
- JOUANY, J.P., ZANAIB, B., SENAUD, J., GROLIÈRE, C.A., GRAIN, J. e THIVEND, P., 1981b. Role of the rumen ciliate protozoa *Polyplastron multivesiculatum*, *Entodimium* sp. and *Isotricha prostoma* in the digestion of a mixed diet in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.*, 21:871-84.
- LATHAM, M.J., 1980. Adhesion of rumen bacteria to plant cell wall. In: R.C.W. Berkeley, J.M. Lynch, J. Melling, P.R. Rutter e B. Vicent ed. *Microbial adhesion to surfaces*, Chichester, Ellis Horwood, pp.339-50.
- MCCALLISTER, T.A., BAE, H.D., JONES, G.A. e CHENG, K.G., 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Animal Sci.*, 72:3004-18.
- NOGUEIRA FILHO, J.C.M., OLIVEIRA, M.E.M., TOLEDO, L.R.A. e VELLOSO, L., 1998. Protozoários ciliados no rúmen de zebrúinos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados. *Pesq. Agropec. Bras.*, 33 (6):993-999.
- ONODERA, R. e KANDATSU, M., 1970. Amino acids protein metabolism of rumen ciliate protozoa. *Bull. Coll. Agric. Vet. Nihon Univ.*, 38:228-37.
- ORPIN, C.G., 1985. Association of rumen ciliate populations with plant particles in vitro. *Microbiol. Ecol.*, 11:59-69.
- ORSKOV, E.R. e MCDONALD, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.*, 92:499-503.

- SAS, 1987. Guide for personal computers. Gary, SAS Institute Inc.
- SEFRIN, A.R., 1994. Degradação ruminal do farelo de soja e do feno "coast-cross" com bovinos fistulados em dietas com diferentes proporções volumoso/concentrado. Pirassununga. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, 99 p.
- SONKSEN, S., 1994. Tratamentos alcalinos sobre bagaço de cana-de-açúcar, e adição de tampões na dieta: efeitos na degradação ruminal e digestibilidade aparente. Pirassununga. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, 65 p.
- VALADARES FILHO, S.C., COELHO DA SILVA, J.F. e LEÃO, M.I., 1990. Degradabilidade "in situ" da matéria seca e proteína bruta de vários alimentos em vacas em lactação. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 19:512-22.
- WALLACE, R.J. e MACPHERSON, C.A., 1987. Factors affecting the rate of breakdown of bacterial protein in rumen fluid. Br. J. Nutr., 58:313-23.
- ZHAO, J.Y., SHIMOJO, M. e GOTO, I., 1993. The effects of feeding level and roughage/concentrate ratio on the measurement of protein degradability of two tropical forages in the rumen of goats, using the nylon bag technique. An. Feed. Sci. Technology, 41:261-9.

APPROACH TO THE CHARACTERIZATION OF DAIRY COW PRODUCTIVE CYCLE IN PORTUGAL

A. SILVESTRE*, F. PETIM-BATISTA e J. COLAÇO

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro – Dept. de Zootecnia
Apartado 1013; 5000-911 Vila Real *E-Mail:asilvest@utad.pt

(Aceite para publicação em 1 de Junho de 2002)

ABSTRACT

The dairy cow productive life starts with the first childbirth and is followed by a series of productive cycles. The productive cycle of the dairy cow is composed by lactation, dry and gestation periods. This one begins during the lactation and ends with birth (end of dry period and the transition between two productive cycles). We conclude that the highest number of births for first parity cows occurs at 25 months of age and the annual productive cycle was the one which presents greater frequency, with duration of the lactation and the dry period of 303 and 61 days, respectively. However, these characteristics show asymmetrical distribution (bend to the right) which implies that the average value was higher than the mode. The lactation order 3 was the one which presented the highest milk productions, fat and protein (6672,8, 240,79 and 206,48 kg, respectively) and we conclude that, considering 6 lactation orders, the first parity cows are not the ones that present the lowest productions.

Key words: age of birth, dairy cows, productive cycle, tests day

CONTRIBUTO PARA A CARACTERIZAÇÃO DO CICLO PRODUTIVO DA VACA LEITEIRA EM PORTUGAL

RESUMO

A vida produtiva da vaca leiteira inicia-se com o primeiro parto ao qual se segue uma série de ciclos produtivos. Do ciclo produtivo da vaca leiteira fazem parte a lactação, o período seco e a gestação que se inicia durante a lactação e termina no parto (fim do período seco), momento que marca a transição entre dois ciclos produtivos. Neste trabalho concluímos que o maior número de partos de primíparas ocorre aos 25 meses de idade e que o ciclo produtivo anual é o que apresenta maior frequência, com uma duração da lactação e do período seco de 303 e 61 dias, respectivamente. Porém, estas características apresentam uma distribuição assimétrica (enviesada à direita) o que implica valores médios superiores aos modais. A ordem de lactação 3 foi a que apresentou as maiores produções de leite, gordura e proteína (6672,8, 240,79 e 206,48 kg, respectivamente) e concluímos que,

considerando 6 ordens de lactação, as vacas primíparas não são as que apresentam as menores produções.

Palavras-chave: Bovinos leiteiros, ciclo produtivo, contraste, idade parto

INTRODUÇÃO

A vida produtiva de uma vaca leiteira é constituída por uma série de lactações (VANRADEN e WIGGANS, 1995). Cada lactação está inserida num ciclo produtivo de que também fazem parte a gestação e o período seco. Investigadores têm estudado a inclusão da característica duração da vida produtiva nos programas de melhoramento genético (VANRADEN e WIGGANS, 1993; VANRADEN e WIGGANS, 1995).

Tem sido aceite a duração padrão da lactação de 305 dias. A lógica em que assenta esta duração, em particular, baseia-se no objectivo de uma lactação e um parto por ano, com 90 dias de vaca não-gestante e 60 dias de período seco (BATH *et al.*, 1982; CHAMBERLAIN e WILKINSON, 1996). Porém, esta questão encontra-se actualmente em debate. Investigações recentes sugerem que um intervalo entre partos de um ano não é adequado para vacas de alta produção, sendo importante que o início da gestação ocorra mais tarde em relação ao pico de lactação, porque é uma fase em que as exigências nutricionais para a produção de leite estão a diminuir (CHAMBERLAIN e WILKINSON, 1996).

A idade ao primeiro parto é uma característica importante pois é a partir deste momento que se inicia a vida produtiva da vaca leiteira. Na bibliografia encontram-se valores médios que variam entre os 2 anos e os 2 anos e 4 meses (STANTON *et al.*, 1992; BARASH *et al.*, 1996).

O objectivo deste trabalho consiste em contribuir para a caracterização da situação actual do ciclo produtivo do efectivo bovino leiteiro nacional.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho utilizamos dados de 157293 lactações dos anos 1992 a 1997 provenientes do contraste lacto-manteigueiro de Portugal continental. Estas lactações também foram utilizadas em outros objectivos de análise para além do que aqui apresentamos, nomeadamente o estudo de curvas de lactação, pelo que resultam de um processo de edição de dados em que limitámos a produção de leite, teor butiroso e teor proteico dos contrastes aos seguintes valores. 3-99kg; 1,5-9%; 1-7%, respectivamente (ICAR, 1995). Restringimos o intervalo parto – 1º contraste e o intervalo entre contrastes aos valores máximos de 30 e 66 dias, respectivamente (D.R. 243, 1991). Por fim, foram apenas consideradas lactações

que apresentassem entre 5 a 25 contrastes válidos. Para mais pormenores sobre a edição dos dados consultar SILVESTRE *et al.* (sd).

Os dados para a idade ao parto revelaram, numa análise preliminar, a ocorrência de valores extremos e sem significado biológico para esta característica. Uma origem para este erro é o registo da data de nascimento, de que depende o cálculo da idade ao parto. Optou-se por não considerar neste ponto 3131 lactações em que a idade ao parto foi inferior ao percentil 1% e superior ao percentil 99%, por ordem de lactação.

Para conhecermos o intervalo entre partos é necessário dispor de duas lactações consecutivas da mesma vaca. Devido às restrições efectuadas, para algumas vacas faltaram lactações em posições intermédias que neste ponto não puderam ser consideradas. Após apreciação gráfica da distribuição do intervalo entre partos e período seco e, atendendo ao seu significado biológico, restringimos ainda estas duas características aos dias 305-732 e 30-150, respectivamente. BARASH *et al.* (1996) referem o mesmo critério para a duração máxima do período seco. Reunir as condições necessárias para determinar o intervalo entre partos implicou uma redução de 76% nos dados, passando de 157293 para 38327 lactações.

Estas operações foram efectuadas recorrendo a vários programas escritos para o efeito no programa de gestão de dados FoxPro 6.0 (1998). A análise estatística realizou-se no programa SAS (1995) (*Proc. Univariate* e *Proc. GLM*, tendo sido utilizado o teste de Bonferroni na comparação múltipla de médias).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Distribuição dos contrastes por lactação terminada

A Fig. 1 apresenta a distribuição das lactações terminadas por número de contrastes efectuado por lactação em que a média foi de 10 ± 3 . Dentro do universo de lactações considerado (157293), 71% apresentaram entre 8 e 12 contrastes por lactação terminada e 53% entre 9 e 11. O maior número de lactações ocorreu para 10 contrastes, com 31884 lactações.

Alguns autores adoptam a metodologia de tratar a lactação agrupando os dias de lactação em classes com determinada amplitude (30 dias - PANDER *et al.*, 1992; 5 e 10 dias - STANTON *et al.*, 1992; 15 dias - VARGAS *et al.*, 1998). Nos nossos dados cada lactação é constituída por uma série de contrastes mensais que, todavia, não constituem um bom critério de agrupamento uma vez que se verifica existir sobreposição de dias de lactação entre contrastes consecutivos.



Figura 1 . Distribuição das lactações terminadas por número de contrastes efectuado por lactação.

Idade ao parto

Neste ponto, a ordem de lactação 6 não é considerada porque representa um grupo heterogéneo em que estão incluídos todas as ordens de lactação superiores a 5. Foram analisadas 134241 idades ao parto, distribuídas por ordem de lactação conforme indica o Quadro I. Embora a idade média de ocorrência do 1º parto tenha sido de 2a 4m, verifica-se que o maior número de 1^{os} partos ocorreu aos 2a 1m e que aos 2a 3m 50% das primíparas já pariram. PÉROCHON *et al.* (1996) com um número restrito e controlado de dados (339 lactações de 1ª ordem) obtiveram para a idade ao primeiro parto os percentis P₅= 1a 11m e P₉₅= 3a 1m, resultados próximos dos apresentados no Quadro I, apresentando, no entanto, uma mediana 6 meses superior.

QUADRO I - RESUMO DA IDADE AO PARTO, POR ORDEM DE LACTAÇÃO (OL).

OL	n	$\bar{x} \pm S_x$	CV(%)	Med.	Mod.	P ₅	P ₉₅	P ₉₅ - P ₅
1	28684	2a 4m ± 5m	17	2a 3m	2a 1m	1a 10m	3a	14m
2	38239	3a 5m ± 6m	13	3a 4m	3a 1m	2a 10m	4a 4m	18m
3	30019	4a 7m ± 7m	12	4a 6m	4a 3m	3a 10m	5a 8m	22m
4	22498	5a 8m ± 8m	12	5a 7m	5a 7m	4a 9m	6a 11m	25m
5	14801	6a 9m ± 9m	11	6a 8m	6a 8m	5a 8m	8a 1m	29m

† a - anos, m - meses.

CV% - coeficiente de variação; Med. - mediana; Mod. - Moda; P₅ e P₉₅ - Percentis 5% e 95%, respectivamente; P₉₅-P₅ – amplitude do intervalo entre P₅ e P₉₅.

STANTON *et al.* (1992) num trabalho realizado no nordeste dos Estados Unidos, envolvendo 327424 lactações nos anos 1987-89, apresentam para a idade ao 1º, 2º e 3º partos os valores de 2a 4m, 3a 5m e 4a 6m, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os valores do Quadro I, enquanto que BARASH *et*

al. (1996) apresentam valores médios para a idade ao parto cerca de 4 meses inferiores.

A Fig. 2 mostra a distribuição da idade ao parto para as ordens de lactação 1 a 5 e para as lactações consideradas no Quadro I. Observa-se que partos tardios de uma ordem de lactação ocorrem depois dos partos mais precoces da ordem de lactação seguinte. Este facto é confirmada pelos percentis P_5 e P_{95} (Quadro I).

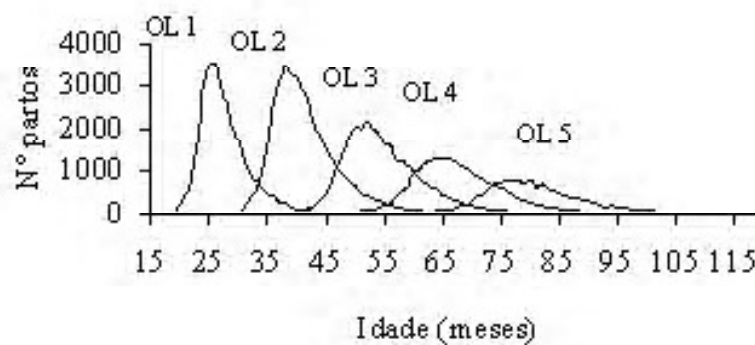


Figura 2 . Distribuição da idade ao parto por ordem de lactação.

Os valores de desvio padrão do Quadro I bem como a Fig. 2 sugerem que a idade ao parto apresenta variabilidade crescente com o aumento da ordem de lactação. Todavia, a dispersão apresentada em termos relativos mostra precisamente o contrário, apresentando a 1ª ordem de lactação o maior coeficiente de variação, 26%. A análise da amplitude do intervalo P_{95} - P_5 parece-nos uma abordagem válida na interpretação biológica e prática dos resultados obtidos para esta característica. Assim, podemos afirmar que um intervalo de 14 meses engloba 90% das idades ao parto na ordem de lactação 1, aumentando este valor sucessivamente até à ordem de lactação 5 onde atinge o valor de 29 meses. Este resultado explica-se na medida em que a idade ao parto numa ordem de lactação superior é resultado da propagação de todo o historial zootécnico da vaca nas ordens de lactação anteriores.

Intervalo entre partos, duração da lactação e duração do período seco

No Quadro II apresentamos os resultados para a idade ao parto, intervalo entre partos, duração da lactação e período seco. Verificamos que, como seria de esperar, a duração da lactação mais o período seco igualam o intervalo entre

partos. Na ordem de lactação 4 há um desfasamento de um dia que não se verifica nos valores não arredondados. Não consideramos o intervalo entre partos e período seco para as ordens de lactação 5 e 6 porque a ordem de lactação 6 inclui todas as lactações de ordem 6 e superior.

QUADRO II - INTERVALO ENTRE PARTOS, DURAÇÃO DA LACTAÇÃO E PERÍODO SECO.

Ordem Lactação	N	Intervalo entre partos	Duração lactação	Período seco
1	8877	399 ^a ± 67	333 ^a ± 65	66 ^c ± 23
2	11223	394 ^b ± 51	322 ^b ± 58	72 ^b ± 25
3	8631	393 ^b ± 59	321 ^{bc} ± 55	72 ^b ± 25
4	5864	392 ^b ± 59	319 ^c ± 56	74 ^a ± 25
5	3732		315 ^d ± 54	

^{a,b} Na mesma coluna valores com diferentes notações são significativamente diferentes (P<0,05)

Com o aumento da ordem de lactação o intervalo entre partos e a duração da lactação diminuem enquanto que o período seco aumenta. Nem todas estas variações foram significativas, como nos mostra o Quadro II, sendo no entanto de destacar a ordem de lactação 1 que apresenta o intervalo entre partos e a duração da lactação com os maiores valores (399 e 333 dias, respectivamente, P<0,05) e o menor período seco (66 dias, P<0,05).

A Fig. 3 retrata o primeiro ciclo produtivo da vaca leiteira (intervalo entre o 1º e 2º partos, duração da lactação e duração do período seco) em que o intervalo entre partos pode ser dividido em lactação mais período seco. A dispersão destas 3 características nos vários ciclos produtivos, e que a Fig. 3 ilustra para o primeiro, constitui um forte indicador de um potencial de alteração. Note-se ainda que as 3 distribuições encontram-se enviesadas para a direita o que sugere influência ambiental. A Fig. 4 mostra a distribuição conjunta da duração da lactação, intervalo entre partos e período seco para todas as lactações de ordem inferior a 5. A duração da lactação tem uma distribuição oscilatória com vários picos, em que os maiores ocorrem aos dias 281 e 303 com as frequências de 355 e 397, respectivamente. A maior frequência para o intervalo entre partos acontece no dia 365 com um valor de 358 partos. Confrontando estes resultados com o Quadro II verifica-se que os valores médios são superiores aos valores modais.

Estas características apresentam-se enviesadas à direita, como já havíamos referido quando atendemos apenas à ordem de lactação 1 (Fig. 3), que se explica da seguinte forma: as menores durações apresentam limites biológicos que tem a haver com a duração do puerpério e da gestação; as durações superiores,

devem-se a factores de ineficiência reprodutiva e práticas de manejo pelo que apresentam maiores frequências.

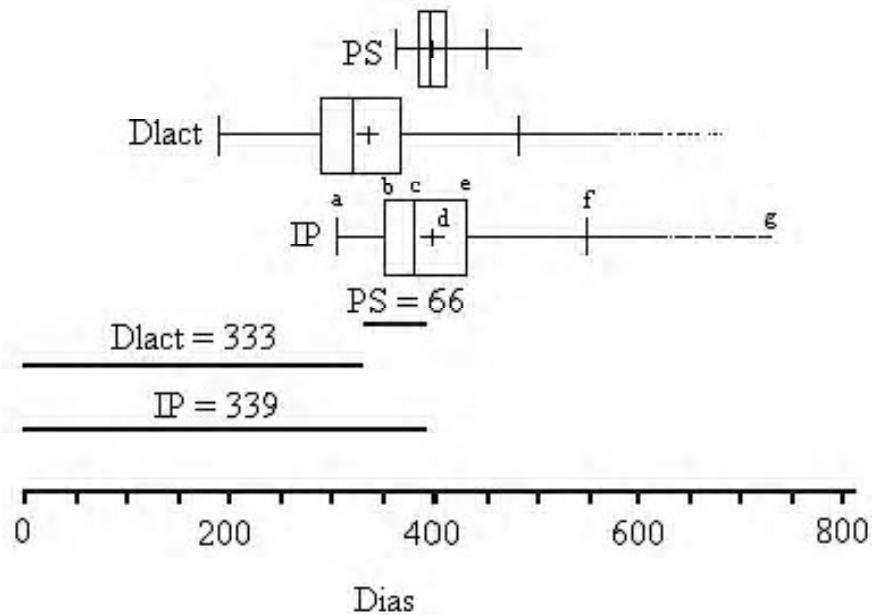


Figura 3. Intervalo entre partos, duração da lactação e período seco para a ordem de lactação 1. Legenda: a – mínimo; b, c e e - quartis 1, 2 e 3; d – média; f - percentil 98,5; g - máximo.

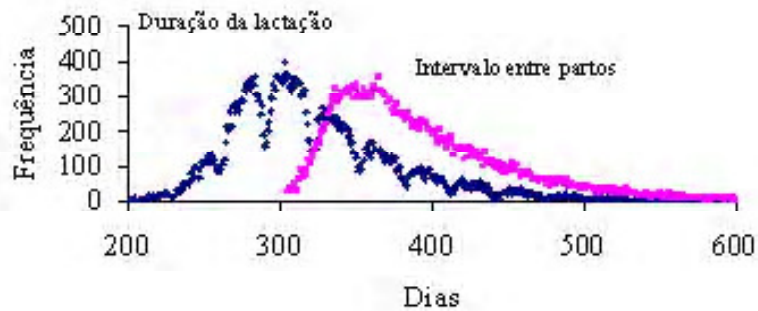


Figura 4. Distribuição da duração da lactação e do intervalo entre partos para as ordens de lactação 1 a 4 (n = 34595).

Na distribuição do período seco encontramos 3 picos nos dias 39, 61 e 84 com as frequências de 424, 789 e 422 (Fig. 5). A existência de um período seco é fundamental para o bom desempenho produtivo da lactação seguinte mas a sua duração é bastante manipulável. Segundo BAR-ANAN *et al.* (1986) e KEOWN e EVERETT

(1986) o número óptimo de dias de vaca seca, para maximizar a produção por animal, varia entre 31 a 60 dias e 51 a 60 dias, respectivamente, diminuindo com a idade e dependendo da produção no pico e produção total da lactação anterior. Períodos de repouso longos ou curtos contribuem negativamente para a lactação seguinte (BATH *et al.*, 1982).

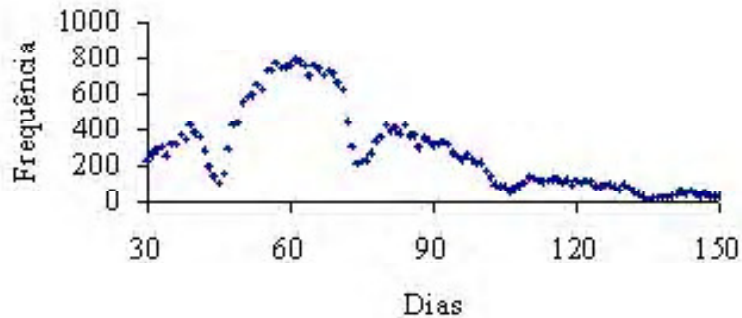


Figura 5. Distribuição do período seco para lactações de ordem 1 a 4 (n=34595).

Quando o número de dias de vaca vazia aumenta, o intervalo entre partos necessariamente aumenta exactamente da mesma forma. Consoante a resposta produtiva da vaca na fase final da lactação e/ou critérios de manejo adoptados na exploração, a duração da lactação é parcialmente manipulável, variando a duração do período seco de forma inversa caso se pretenda manter fixo o intervalo entre partos. Assim, a duração do período seco poderá desempenhar um papel nivelador que explique que este não siga o padrão de variação da duração da lactação.

Desta análise concluímos que a duração da lactação de 303 dias, o período seco de 61 dias e o intervalo entre partos de 365 dias foram os valores de maior frequência e correspondem a um ciclo produtivo anual. Contudo, é de destacar a elevada variabilidade encontrada.

Produções totais e aos 305 dias de leite, gordura e proteína

O Quadro III apresenta as produções totais e aos 305 dias de leite, gordura e proteína estimadas de acordo com o método de Fleischmann (D.R., 1991), para as 152293 lactações. STANTON *et al.* (1992) num trabalho realizado nos Estados Unidos obtiveram, em termos gerais, para a produção de leite, gordura e proteína valores superiores em 1130, 45 e 43 kg, respectivamente; BARASH *et al.* (1996) em Israel verificaram para as referidas características valores superiores em 1982, 26 e 52 kg respectivamente. Estes resultados ilustram a especificidade produtiva existente entre países.

QUADRO III - PRODUÇÕES TOTAIS E AOS 305 DIAS DE LEITE, GORDURA E PROTEÍNA (MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO), POR ORDEM DE LACTAÇÃO (OL).

OL	N	Prod	Leite	Gordura	Proteína
1	29266	Total	6630,9 ^d \pm 2422,3	239,52 ^d \pm 91,95	206,60 ^c \pm 78,72
2	39018	Total	7058,1 ^b \pm 2432,1	256,68 ^b \pm 94,31	222,28 ^a \pm 78,49
3	30628	Total	7158,9 ^a \pm 2416,0	260,40 ^a \pm 94,28	223,21 ^a \pm 77,50
4	22952	Total	6931,7 ^c \pm 2363,7	252,12 ^c \pm 91,80	215,97 ^b \pm 75,31
5	15103	Total	6653,2 ^d \pm 2275,1	241,41 ^d \pm 87,78	206,81 ^c \pm 72,44
6	20326	Total	6003,8 ^e \pm 2140,6	216,70 ^e \pm 83,10	186,17 ^d \pm 68,21
1	29266	305	5938,9 ^e \pm 1731,0	212,03 ^d \pm 64,85	183,19 ^e \pm 55,16
2	39018	305	6541,3 ^b \pm 1924,0	235,64 ^b \pm 73,65	204,39 ^b \pm 60,51
3	30628	305	6672,8 ^a \pm 1939,9	240,79 ^a \pm 75,22	206,48 ^a \pm 60,84
4	22952	305	6490,5 ^c \pm 1913,5	234,47 ^b \pm 74,01	200,89 ^c \pm 59,66
5	15103	305	6259,9 ^d \pm 1862,7	225,76 ^c \pm 71,61	193,42 ^d \pm 58,19
6	20326	305	5686,9 ^f \pm 1769,0	204,16 ^e \pm 68,41	175,45 ^f \pm 55,56

^{a,b} Na mesma coluna e para o mesmo tipo de produção, valores com diferentes notações são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

A ordem de lactação 3 é a que apresenta os maiores valores para os 6 aspectos produtivos apresentados ($P < 0,05$), com a excepção da produção de proteína total em que as ordens de lactação 2 e 3 não diferem (Quadro III), o que está de acordo com resultados apresentados por SILVESTRE *et al.* (1998) com metodologia distinta e dados em menor escala.

A ordem de lactação 1 é referida na bibliografia como sendo a menos produtiva (GROSSMAN e KOOPS, 1988; STANTON *et al.*, 1992; BARASH *et al.*, 1996). Sucede porém que nos nossos resultados (Quadro III) para as produções de leite, gordura e proteína a ordem de lactação 6 apresenta menores valores que a ordem de lactação 1 e, se considerarmos apenas as produções totais, a ordem de lactação 5 não difere da ordem de lactação 1.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A idade ao parto, intervalo entre partos, duração da lactação e duração do período seco mostraram-se características com distribuição assimétrica (enviesadas à direita) pelo que, aquando da sua sumariação, medidas como a média e o desvio padrão deverão ser coadjuvadas por outras medidas como a mediana, moda e percentis.

A idade 2 anos e 1 mês é aquela em que ocorre um maior número de partos de primíparas. As durações de 365, 303 e 61 dias do intervalo entre partos, lactação e período seco correspondem aos valores de maior frequência encontrados e correspondem a um ciclo produtivo anual. Contudo, pelo motivo supramencionado, os valores médios para estas características são superiores (394, 322 e 71 dias, respectivamente).

A ordem de lactação 3 foi a que apresentou as maiores produções aos 305 dias de leite, gordura e proteína (6672,8, 240,79 kg e 206,48 kg, respectivamente) e concluímos que, considerando 6 ordens de lactação, as vacas primíparas não são as que apresentam as menores produções.

Agradecimentos

Agradecemos à Estação de Apoio à Bovinicultura Leiteira de Verdemilho a disponibilização dos dados que constituíram a base deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- BAR-ANAN, R., WELLER, J.I., WIGGANS, G. R. e OSTERKORN, K., 1986. Prediction of annualized lactation from partial lactations. *J. Dairy Science*, 69: 1897-1903.
- BARASH, H., SILANIKOVE, N. e WELLER, J.L., 1996. Effect of Season of Birth on Milk, Fat, and Protein Production of Israeli Holsteins. *J. Dairy Science*, 79: 1016-1020.
- BATH, D.L., DICKINSON, F. N., TUCKER, H. A. e APPLEMAN, R. D., 1982. Ganado Lechero, Principios, Práticas, Problemas y Beneficios, 2ª Edição, Interamericana, 574 p.
- CHAMBERLAIN, A. T. e WILKINSON, J. M., 1996. Feeding the Dairy Cow. Chalcombe Publications, UK, 241 p.
- DIÁRIO da REPÚBLICA nº243 1ª Série-B, Portaria nº 1066/91 de 22 de Outubro. (Regulamentação do contaste bovino leiteiro).
- GROSSMAN, M. e KOOPS, W. J., 1988. Multiphasic analysis of lactation curves in dairy cattle. *J. Dairy Science*, 71: 1598-1608.
- ICAR – International Committee for Animal Recording, 1995. Appendices to the International Agreement of Recording practices. Via A. Torlonia 15/A, 1-00161 Rome, Italy.
- KEOWN, J.F. e EVERETT, R.W., 1986. Effect of days carried calf, days dry, and weight of first calf heifers on yield. *J. Dairy Science*, 69: 1891-1896.
- MICROSOFT VISUAL FOXPRO 6.0. Copyright (c) 1988-1998 Microsoft Corporation.
- PANDER, B.L., HILL, W.G. e THOMPSON, R., 1992. Genetic parameters of test day records of British Holstein-Frisian heifers. *Animal Production*, 55: 11-21.
- PÉROCHON, L., COULON, J.B. e LESCOURRET, F., 1996. Modelling lactation curves of dairy cows with emphasis on individual variability. *Animal Science*, 63: 189-200.

- SAS Institute Inc., 1995. Users Guide, Version 6, Third Edition, Cary, NC. 582 p.
- SILVESTRE, A.M.D., PETIM-BATISTA, M.F. e COLAÇO, J., 1998. Sazonalidade na Curva de Lactação. *Revista Portuguesa de Zootecnia*. Ano V - Nº 2: 17-28.
- SILVESTRE, A.M.D., PETIM-BATISTA, M.F. e COLAÇO, J., sd. Curvas de lactação para a produção de leite, gordura e proteína: Uma nova abordagem. *Revista Portuguesa de Zootecnia*. Aceite para publicação em 02/05/27.
- STANTON, T. L., JONES, L. R., EVERETT, R. W. e KACHMAN, S. D., 1992. Estimating milk, fat and protein lactation curves with a test day model. *J. Dairy Science*, 75: 1691-1700.
- VANRADEN, P.M. e WIGGANS, G.R., 1993. Genetic evaluation of length of productive life including predicted longevity of life cows. *J. Dairy Science*, 76: 2758-2765.
- VANRADEN, P.M. e WIGGANS, G.R., 1995. Productive Life Evaluations: Calculation, Accuracy, and economic value. *J. Dairy Science*, 78: 631-638.
- VARGAS, B., PEREZ, E. e VAN ARENDONK, J.A.M., 1998. Analysis of Test Day Yield Data of Costa Rican Dairy Cattle. *J. Dairy Science*, 81: 255 - 263.

LACTATION CURVES FOR MILK, FAT AND PROTEIN: A new approach

A. SILVESTRE*, F. PETIM-BATISTA e J. COLAÇO

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro – Dept. de Zootecnia

Apartado 1013; 5000-911 Vila Real E-Mail:asilvest@utad.pt

(Aceite para publicação em 1 de Junho de 2002)

ABSTRACT

In this work the individual lactation was considered as a set of 3 curves of production (milk, fat and protein) and two curves of contents (fat and protein contents). This is not the most common approach because usually only milk production is included. On the other hand, when components of milk are included too, those curves are presented separately and in an independent way. So, we adjusted the 5 curves of 157293 lactations (1587579 test days) and we have concluded that Wood's model does not adjust with the same efficiency all the 5 curves, being the CPL and the CTB the ones that present the best and the worst results. The curves combinations forms variability was very high. In the most frequent combination of curves, the milk, fat and protein production, showed the same shape (ascending phase, peak, descending phase), while fat and protein content varied on a inverse way but without agreement in the moment of changing phase.

Key words: Dairy cow, lactation curves; Wood's model

CURVAS DE LACTAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE LEITE, GORDURA E PROTEÍNA: Uma nova abordagem

RESUMO

Neste trabalho tratou-se a lactação individual como um conjunto de 3 curvas de produção (leite, gordura e proteína) e duas curvas de composição percentual (teor butíroso e teor proteico). Esta não é a abordagem mais frequente em estudos sobre curvas de lactação que na maioria dos casos incluem apenas a produção de leite ou, quando incluem componentes do leite, apresentam separadamente as várias curvas. Ajustámos individualmente o modelo de Wood às 5 curvas de 157293 lactações (1587579 contrastes) e concluímos que este não ajusta com a mesma eficiência as 5 curvas, sendo a CPL e a CTB as que apresentam os melhores e piores resultados. A variabilidade de combinações de formas de curvas foi elevada. Na combinação mais frequente as produções de leite, gordura e proteína apresentam a mesma forma de variação (fase ascendente, pico, fase descendente), com os teores butíroso e proteico a variarem de forma inversa mas sem que as 5 curvas coincidam no momento de viragem de fase.

Palavras-chave: Bovinos leiteiros, curvas de lactação, modelo de Wood

INTRODUÇÃO

A abordagem clássica da secreção láctea, enquanto função da glândula mamária, refere a ocorrência de variações na composição do leite no decorrer da lactação, sendo a diminuição da quantidade produzida acompanhada por um aumento do teor de gordura, proteína e minerais (KOLB, 1987). Esta descrição não elucida sobre a fase ascendente da produção de leite bem como o comportamento da produção de gordura e proteína ao longo de toda a lactação. Este conhecimento é necessário para se proceder a uma alimentação eficiente da vaca leiteira (WEBSTER, 1987; CHAMBERLAIN e WILKINSON 1996).

Muitos trabalhos sobre a curva de lactação tem incidido apenas na produção de leite (SHERCHAND *et al.*, 1995; PÉROCHON *et al.*, 1996; SCOTT *et al.*, 1996; TOZER e HUFFAKER, 1999). Porém, alguns autores incluem também componentes do leite em termos percentuais e/ou produtivos (WOOD, 1976; WOOD, 1980; WOOD *et al.*, 1980; GOODALL, 1986; BOER *et al.*, 1989; STANTON *et al.*, 1992). Contudo, não tem sido evidente a investigação da curva de lactação enquanto fenómeno individual que se caracteriza pela forma integrada como evolui a produção do leite e seus constituintes do parto à secagem.

O objectivo deste trabalho consiste em tratar cada lactação individual como um conjunto de 3 curvas de produção (leite, gordura e proteína) e duas curvas de composição percentual (teor butiroso e teor proteico).

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados dados do contraste lacto-manteigueiro de Portugal continental referentes a lactações completas de 1992 a 1997. O ficheiro original de dados produtivos apresentava 3018633 registos de contraste mensais de lactações completas. No ficheiro cada linha é um contraste em que se encontra a identificação da vaca e do estábulo, a ordem de lactação, a data do contraste, o dia de lactação, a contagem de células somáticas, o tipo de contraste, a produção da manhã, a produção da tarde, o teor butiroso e o teor proteico. A data de nascimento encontrava-se num ficheiro de genealogias.

Procedeu-se a uma reestruturação dos dados em que foram acrescentados campos para incluir variáveis de identificação e cálculo. Assim, foram consideradas variáveis para distinguir lactações da mesma vaca, para numerar os contrastes por lactação, para o cálculo do intervalo entre contrastes, para a data de parto, para o cálculo da idade ao parto, para o cálculo das produções de leite gordura e proteína totais e aos 305 dias. Estas operações foram efectuadas recorrendo a

vários programas escritos para o efeito no programa de gestão de dados FoxPro 6.0 (1998).

Nas restrições consideradas na edição dos dados (Quadro I) teve-se em atenção que o último contraste de cada lactação não apresenta qualquer valor nos campos de produção de leite e teores, servindo para identificar o fim da lactação. Verificou-se a existência de contrastes de lactações em curso, sem fim conhecido, com predominantemente 2, 3, 4 contrastes. Eliminámos todas as lactações sem fim conhecido, com menos de 5 contrastes ou mais de 25 contrastes.

As restrições ao intervalo parto - 1º contraste e intervalo entre contrastes estão de acordo com o preconizado no Diário da República que regulamenta o contraste leiteiro (D.R. 243, 1991). Nas restrições para a produção de leite, o teor butiroso e o teor proteico foi tido em consideração o recomendado pelo ICAR (1995).

QUADRO I - RESTRIÇÕES CONSIDERADAS NA EDIÇÃO DOS DADOS.

Restrição	N.º de linhas
lactações sem fim conhecido	24858
lactações com menos de 5 contrastes	58754
lactações com mais de 25 contrastes	18914
linhas repetidas	116043
intervalo parto \leq 1 ¼ contraste > 30 dias	1052863
intervalo entre contrastes > 66 dias	484
3 < produção de leite < 99 (Kg)	7257
1,5 < teor butiroso < 9 (%)	42845
1 < teor proteico < 7 (%)	1947

O ficheiro de dados foi reduzido em 1273761 linhas (58%) e não em 1323965 linhas, como indicaria a simples soma das restrições (Quadro I) porque há lactações com contrastes em que ocorre mais do que uma restrição. VARGAS *et al.* (1998) num trabalho com alguns aspectos comuns ao nosso retiveram 48% dos dados o que não está muito longe do resultado por nós apresentado. Após as restrições mencionadas, o ficheiro de dados foi dividido num ficheiro com as produções totais de cada lactação (157293 lactações) e outro com os contrastes de cada lactação (1587579 contrastes). Estas 157293 lactações repartem-se por 137 concelhos de todo o território de Portugal continental, com a excepção do distrito da Guarda. A sua distribuição é bastante irregular, sendo que o distrito de Aveiro representando 21% das lactações, juntamente com Coimbra (14%), Porto (14%), Braga (10%), Lisboa (10%) e Santarém (8%), perfazem 77% das lactações

em estudo. Esta assimetria é um reflexo esperado da distribuição do efectivo bovino leiteiro.

Ajustámos o modelo $Q = at^b e^{-ct}$ (WOOD, 1967), que passamos a designar por modelo de Wood, a todas as lactações do fideiro de contrastes para estimar os parâmetros que caracterizam as curvas da produção de leite (CPL), teor butiroso (CTB), teor proteico (CTP), produção de gordura (CPG) e produção de proteína (CPP). Este modelo é adequado para descrever a produção de leite e seus constituintes (WOOD, 1976; WOOD *et al.*, 1980). SILVESTRE *et al.* (1996) sintetiza algumas das propriedades do modelo de Wood nomeadamente o dia e a produção no pico. Utilizamos módulo *nonlin* do programa Systat (versão 5, 1992) que aplica o método Quasi-Newton, tendo 5×10^{-5} como precisão do critério de convergência (WILKINSON *et al.*, 1992) e consideramos como valores iniciais resultados de uma análise preliminar feita a um número restrito de dados.

Obtivemos para cada lactação e para cada uma das 5 curvas a estimativa dos 3 parâmetros do modelo, coeficiente de determinação corrigido e número de iterações. Para calcular para cada lactação as produções totais e aos 305 dias de leite, gordura e proteína de acordo com o modelo de Wood recorremos a um procedimento de integração numérica descrito por SILVESTRE *et al.* (1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo de Wood no ajustamento de diferentes tipos de curvas de lactação

O coeficiente de determinação tem sido utilizado como indicador da eficiência do ajustamento individual de curvas de lactação em larga escala (KELLOG *et al.*, 1977; BATRA, 1986). O ajustamento do modelo de Wood à produção de leite foi o que apresentou um maior número de lactações com $R_c \geq 0,5$, seguido da produção de proteína, produção de gordura, teor proteico e teor butiroso. A diferença de 43,3 pontos percentuais entre o número de curvas com $R_c \geq 0,5$ para a produção de leite (87,4%) e o teor butiroso (44,1%) ilustra bem o facto de o modelo de Wood não apresentar a mesma eficiência no ajustamento dos diferentes tipos de curvas. A ordenação acima referida mantém-se nas classes $0,75 \leq R_c < 0,9$ e $R_c \geq 0,9$ (Quadro II).

Passamos a analisar a ocorrência de $R_c \geq 0,5$ classificando os tipos de curva por ordem de lactação (Quadro III). Verificamos que a ordem de lactação 1 apresenta a menor percentagem de lactações com $R_c \geq 0,5$ nas curvas da produção de leite, gordura e proteína e o segundo menor valor para a curva do

teor proteico, o que nos leva a admitir que o modelo de Wood não apresenta a mesma eficiência no ajustamento dos vários tipos de curvas a cada ordem de lactação. Este resultado está de acordo com ROWLANDS *et al.* (1982) e BATRA (1986) que concluem que a eficiência com que o modelo de Wood descreve a produção de leite de lactações de 1ª ordem é inferior à obtida em ordens de lactação superiores. Porém, estes autores não apresentam resultados para os componentes gordura e proteína.

QUADRO II - DISTRIBUIÇÃO DO COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO CORRIGIDO (Rc) DAS 157293 LACTAÇÕES PARA AS 5 CURVAS.

Rc	Rc<0,5	Rc>0,5	Rc>0,5		
			0,5≤Rc<0,75	0,75≤Rc<0,9	Rc≥0,9
CPL	12,6	87,4	21,4	33,4	32,6
CTB	55,9	44,1	27,4	12,3	4,4
CTP	39,4	60,6	29,9	21,7	9,1
CPG	30,9	69,1	30,2	25,7	13,2
CPP	23,0	77,0	27,8	30,2	19,0

QUADRO III- PERCENTAGEM DE LACTAÇÕES COM $Rc \geq 0,5$ PARA A CPL, CTB, CTP, CPG E CPP POR ORDEM DE LACTAÇÃO

Numlact	N	CPL	CTB	CTP	CPG	CPP
1	29266	74,2	44,6	59,1	48,8	55,4
2	39018	89,6	44,7	62,0	70,1	79,8
3	30628	91,2	44,0	62,0	74,3	82,4
4	22952	91,0	43,5	61,2	75,6	83,1
5	15103	90,5	43,3	60,7	76,2	83,2
6	20326	90,2	43,8	57,5	76,3	83,1

Curvas de lactação para a produção de leite, gordura e proteína e para o teor butiroso e proteico

Passamos a analisar os resultados obtidos do ajustamento do modelo de Wood incidindo na vertente da forma das curvas obtidas. Do ajustamento do modelo de Wood resultam 4 formas distintas de curvas (C1, C2, C3 e C4) porque a estimativa do parâmetro a é sempre positiva (+) e as estimativas dos parâmetros b e c podem ser positivas (+) ou negativas (-), como se observa no Quadro IV. Assim, classificamos as curvas quanto à forma em quatro tipos: C1 (crescente/decrescente), C2 (sempre crescente), C3 (sempre decrescente) e C4 (decrescente/crescente). A Fig. 1 mostra a respectiva interpretação gráfica.

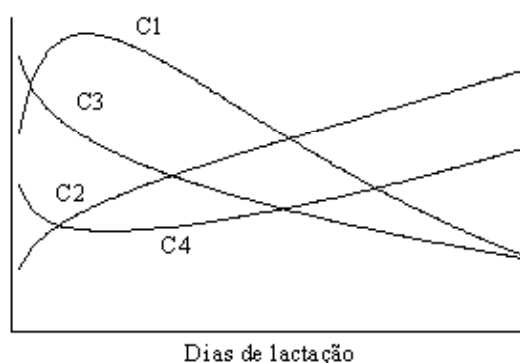


Figura 1. As 4 formas possíveis do modelo de Wood.

No Quadro V apresentamos a distribuição percentual das 157293 lactações de acordo com a forma da curva. Para a produção de leite, gordura e proteína a forma C1 é a que se destaca (74,7; 58,0 e 63,2%, respectivamente) enquanto que para o teor butírico e proteico é a forma C4 que apresenta maior número de lactações (61,3 e 64,5%, respectivamente). Este resultado mostra que a forma clássica da curva de lactação (fase crescente e pico seguido de uma fase decrescente) é a mais frequente para as produções de leite, gordura e proteína, variando os teores de forma inversa.

QUADRO IV - TIPOS DE CURVA (C1, C2, C3 E C4) E RESPECTIVA RELAÇÃO COM O SINAL DAS ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS (P) DO MODELO DE WOOD (A, B, C).

P / Tipo	C1	C2	C3	C4
a	+	+	+	+
b	+	+	-	-
c	+	-	+	-

SHANKS *et al.* (1981) classificam as formas C2, C3 e C4 como curvas atípicas, no que se refere à produção de leite. Atendendo a este critério, o Quadro V apresenta 35,3% de curvas para a produção de leite com forma atípica. Este valor é sensivelmente igual a 35,2% encontrado por SILVESTRE *et al.* (1998) para lactações dos anos 1993 a Junho de 1995 sendo, no entanto, ambos superiores a 22,3%, referente apenas a algumas lactações de 1993 (SILVESTRE *et al.*, 1996). Na bibliografia encontram-se ainda referenciados valores de 2% a 45% de curvas atípicas (SCHNEEBERGER, 1981; SHANKS *et al.*, 1981). Esta grande variação deve-se, segundo CONGLETON e EVERETT (1980b) e SHANKS *et al.* (1981) ao diferente número de contrastes por lactação e diferentes intervalos parto - 1º contraste com que os autores trabalham.

QUADRO V - DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS 157293 LACTAÇÕES.

Forma da curva	PL	TB	TP	PG	PP
C1	74,7	24,2	20,0	58,0	63,2
C2	0,3	11,3	13,6	0,9	0,6
C3	18,0	3,2	1,9	22,7	22,2
C4	7,0	61,3	64,5	18,4	14,0

A lactação individual enquanto combinação de curvas de produção de leite, seus constituintes e respectivos teores

Todavia, o Quadro V não elucida sobre o modo como cada lactação individual apresenta as curvas que lhe são inerentes. Para cada lactação ajustamos 5 curvas (CPL, CTB, CTP, CPG e CPP) de que resultam $4^5 = 1024$ combinações de tipos de curvas teoricamente possíveis para cada lactação. O Quadro VI mostra as 9 combinações com maior frequência considerando todas as 157293 lactações. Com o objectivo de eliminar algumas insuficiências do modelo utilizado, que se manifestaram de uma forma mais acentuada nas curvas dos teores butírico e proteico, apresentamos também resultados restringindo-nos às lactações que apresentam coeficiente de determinação superior a 0,5 em todos os 5 tipos de curvas. Reuniram esta condição 32104 lactações.

Considerando todas as lactações, verifica-se que das 1024 combinações de tipos de curvas teoricamente possíveis, 529 não apresentaram qualquer contagem. As 9 combinações apresentadas reúnem 51% das lactações (Quadro VI). As restantes 486 combinações apresentam frequências individuais baixas (9 combinações com 2%, 5 combinações com 1% e as restantes combinações com menos de 1%). Nas primeiras 9 combinações a curva da produção de leite é sempre do tipo C1. Na combinação de maior frequência (18%), a curva do teor butírico e a curva do teor proteico apresentam forma com variação inversa à curva da produção de leite que cresce até atingir um pico, decrescendo em seguida. A curva da produção de gordura e a curva da produção de proteína apresentam a mesma variação da curva da produção de leite.

Quando consideramos as lactações que apresentam coeficiente de determinação superior a 0,5 em todos os 5 tipos de curvas (Quadro VI), verifica-se que a combinação de maior frequência mantém-se, apresentando inclusive mais 3 pontos percentuais. As lactações são mais homogêneas quanto à variabilidade da forma dos 5 tipos de curvas uma vez que 6 combinações de curvas reúnem mais de 50% das lactações e apenas 248 combinações apresentaram contagem.

QUADRO VI - COMBINAÇÕES DE TIPOS DE CURVA COM MAIOR FREQUÊNCIA, EM PERCENTAGEM (%) E PERCENTAGEM ACUMULADA (%AC), IDENTIFICADAS DE 1 A 9 (COMB).

Todas as lactações (157293)								Lactações com $R_c \geq 0,5$ (32104)							
Comb	CPL	CTB	CTP	CPG	CPP	%	%ac	Comb	CPL	CTB	CTP	CPG	CPP	%	% ac
1	1	4	4	1	1	18	18	1	1	4	4	1	1	21	21
2	1	4	4	3	1	6	24	2	1	4	4	3	1	11	32
3	1	1	1	1	1	6	30	3	1	4	4	3	3	8	40
4	1	1	4	1	1	5	35	4	1	1	1	1	1	5	45
5	1	4	4	3	3	4	39	5	1	1	4	1	1	4	49
6	1	4	1	1	1	3	42	6	1	2	4	1	1	3	52
7	1	4	2	1	1	3	45	7	1	4	4	4	3	3	55
8	1	2	4	1	1	3	48	8	3	4	4	4	4	3	58
9	1	4	4	4	1	3	51	9	1	4	4	4	1	3	61

Muitos dos trabalhos publicados sobre curvas de lactação incidem apenas na produção de leite. No entanto, WOOD apresenta um trabalho em 1976 em que estuda as curvas para o teor e produção de gordura e proteína. Mais tarde, publica dois trabalhos (WOOD, 1980; WOOD *et al.*, 1980) em que estuda também o teor em lactose e desta vez em 5 raças de bovinos: Frisia, Ayrshire, Guernsey, Short-horn e Jersey. GOODALL (1986) estudou as curvas da produção de leite e dos teores butiroso e proteico. Estes trabalhos, embora apresentando alguma especificidade em relação aos dados analisados e seus objectivos, apresentam resultados concordantes com o Quadro V. Contudo, não apresentam resultados em termos da maneira como cada lactação individual se apresenta enquanto fenómeno que se pode caracterizar pelas curvas de produção de leite, gordura e proteína e respectivos teores.

Estimativas dos parâmetros do modelo de Wood

Neste ponto vamos considerar as lactações que apresentam o coeficiente de determinação superior a 0,5 em todos os 5 tipos de curvas. Depois de uma análise preliminar optámos por eliminar valores extremos, aplicando o seguinte critério: foram excluídas todas as lactações em que pelo menos uma das 5x3 estimativas dos parâmetros do modelo de Wood fosse inferior ou superior ao percentil 2,5% ou 97,5%, respectivamente. O resultado desta restrição foi oneroso pois passamos a dispor de 11086 lactações.

No Quadro VII apresentamos os coeficientes de determinação corrigido (R_c) das referidas combinações de curvas. Verifica-se que as curvas para a produção de leite e para o teor butiroso continuam a ser as que apresentam os maiores e

menores valores de Rc. A ordem de grandeza dos Rc para as várias combinações em cada curva é muito semelhante, o que mostra a robustez do modelo utilizado em descrever várias formas de curvas com desempenhos semelhantes.

QUADRO VII - COEFICIENTES DE DETERMINAÇÃO CORRIGIDO (Rc) DAS COMBINAÇÕES DE CURVAS MAIS FREQUENTES

Comb	Lac.	Cont	CPL		CTB		CTP		CPG		CPP	
			X	dp	X	dp	X	dp	X	dp	X	dp
1	4673	46621	0,90	0,077	0,70	0,127	0,76	0,131	0,79	0,129	0,83	0,112
2	2269	23174	0,89	0,078	0,71	0,123	0,75	0,129	0,81	0,121	0,82	0,116
3	1525	15807	0,88	0,086	0,70	0,121	0,78	0,125	0,82	0,115	0,83	0,108
4	1064	9237	0,87	0,110	0,72	0,140	0,74	0,140	0,80	0,128	0,82	0,126
5	849	7165	0,89	0,096	0,71	0,143	0,77	0,139	0,81	0,123	0,83	0,124
6	706	7230	0,91	0,070	0,71	0,122	0,76	0,127	0,75	0,126	0,84	0,112

Lact. - número de lactações; Cont. - número de contrastes; \bar{x} - média; dp - desvio padrão.

A estimativa dos parâmetros do modelo de Wood para as combinações de curvas mais frequentes encontram-se no Quadro VIII e a Fig. 2 mostra a representação gráfica das combinações 1, 2 e 3.

QUADRO VIII - ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS (P) DO MODELO DE WOOD (A, B, C) PARA AS COMBINAÇÕES DE CURVAS MAIS FREQUENTES (\bar{X} - MÉDIA; DP - DESVIO PADRÃO).

Comb	P	CPL		CTB		CTP		CPG		CPP	
		X	dp	X	dp	X	dp	X	dp	X	dp
1	a	12,59	5,474	6,73	2,838	4,87	1,502	0,74	0,314	0,53	0,234
2	a	18,40	5,587	10,30	4,355	5,25	2,443	1,76	0,595	0,74	0,221
3	a	24,73	5,914	7,25	2,218	5,46	1,420	1,74	0,558	1,24	0,293
4	a	16,20	7,869	1,53	0,874	1,75	0,698	0,25	0,187	0,35	0,216
5	a	13,80	6,672	1,62	0,974	4,18	1,121	0,22	0,170	0,54	0,250
6	a	16,49	6,522	2,32	0,583	3,92	0,827	0,37	0,192	0,62	0,253
1	b	0,344	0,1387	-0,193	0,1045	-0,139	0,0745	0,168	0,1215	0,233	0,1444
2	b	0,218	0,0855	-0,314	0,1076	-0,149	0,0903	-0,096	0,0672	0,115	0,0830
3	b	0,099	0,0528	-0,216	0,0787	-0,179	0,0638	-0,114	0,0657	-0,074	0,0499
4	b	0,247	0,1743	0,304	0,1739	0,208	0,1285	0,550	0,2688	0,371	0,2173
5	b	0,316	0,1728	0,277	0,1647	-0,103	0,0690	0,601	0,2601	0,219	0,1671
6	b	0,254	0,1260	0,074	0,0515	-0,090	0,0562	0,345	0,1536	0,175	0,1282
1	c ¹	0,659	0,222	-0,255	0,118	-0,199	0,089	0,430	0,189	0,492	0,204
2	c ¹	0,520	0,145	-0,339	0,122	-0,198	0,091	0,184	0,100	0,363	0,128
3	c ¹	0,406	0,106	-0,256	0,092	-0,225	0,080	0,155	0,090	0,185	0,086
4	c ¹	0,585	0,330	0,288	0,305	0,187	0,201	0,872	0,530	0,688	0,404
5	c ¹	0,707	0,366	0,248	0,246	-0,175	0,102	0,961	0,518	0,539	0,330
6	c ¹	0,573	0,188	-0,081	0,051	-0,157	0,066	0,508	0,191	0,429	0,176

¹ O valor obtido corresponde ao apresentado multiplicado por 10^{-2} ($c = \underline{c} \cdot 10^{-2}$)

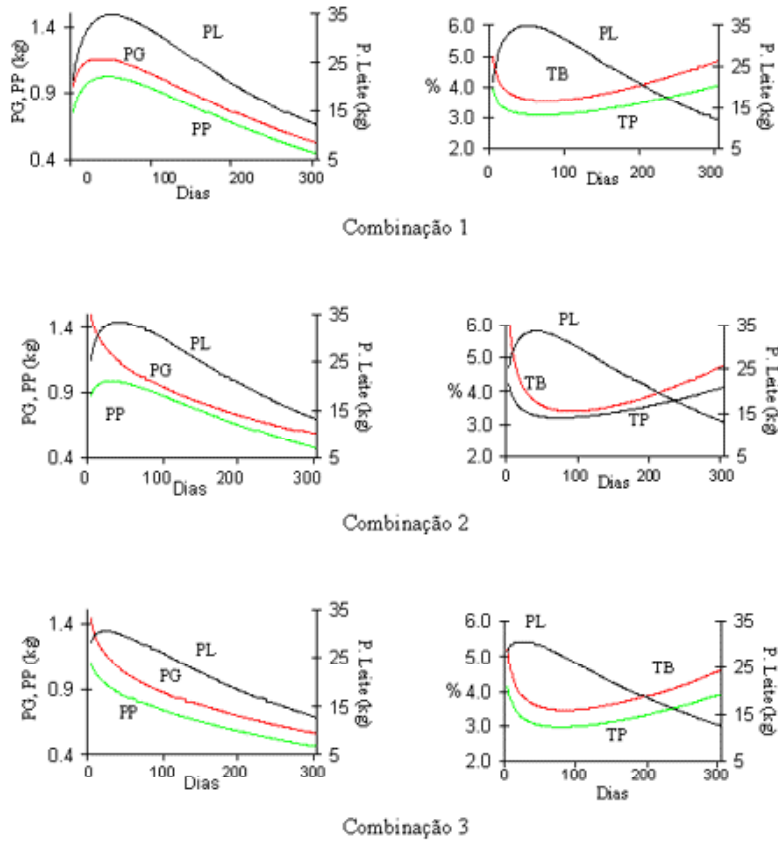


Figura 2. Curvas de lactaco para a produo de leite, gordura e protena e para os teores butrico e proteico (combinaces 1, 2 e 3).

A validade dos resultados apresentados no Quadro VIII depende do modelo utilizado ser adequado na descrio dos dados e que estes constituam um bom retraco da realidade que representam. Para complementar esta discusso, recorreremos  representao grfica dos valores mdios dirios por combinaco e no individualizados por lactaco dos 109234 contrastes (11086 lactaces) a que se referem os Quadros VII e VIII. Os grficos para as combinaces 1, 2 e 3 encontram-se na Fig. 3.

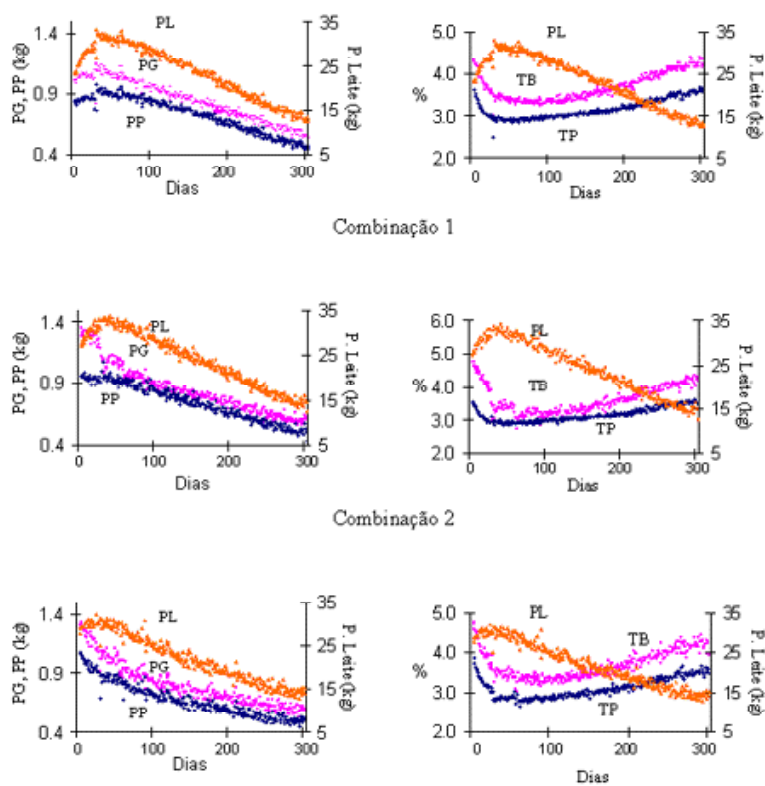


Figura 3. Valores médios diários, não individualizados por lactação, para os contrastes das combinações 1, 2 e 3.

A apreciação gráfica da Fig. 3 permite constatar que as curvas apresentadas no Quadro VIII e representadas na Fig. 2 descrevem, em termos médios, os dados que lhes deram origem. O mesmo se verifica nas combinações 4, 5 e 6. Esta constatação válida, em nosso entender, os resultados obtidos pelo modelo de Wood.

Contudo, importa ter presente que o recurso a contrastes mensais implica uma amostragem da lactação limitada a cerca de 10 produções diárias de leite e

respectivos teores butiroso e proteico (produção de gordura e produção de proteína são obtidas indirectamente, por cálculo), pelo que esta amostragem poderá não representar adequadamente todas as lactações individuais. Investigações futuras em que se disponha de mais registos produtivos por lactação possibilitarão o esclarecimento desta questão.

A combinação de curvas mais frequente coincide com o resultado já apresentado no Quadro V. Nesta combinação, as produções de leite, gordura e proteína apresentam a mesma forma de variação (fase ascendente, pico, fase descendente), com os teores butiroso e proteico a variarem de forma inversa. Contudo, o máximo para as 3 produções e o mínimo para os 2 teores ocorreu nos dias 52, 39, 47, 76 e 70, respectivamente, o que mostra um desfasamento no momento em que ocorre a transição entre fases em cada uma das curvas.

Muitos dos estudos publicados sobre curvas de lactação incidem apenas sobre a produção de leite e consideram objecto de investigação as lactações com forma estimada típica, o que no presente estudo incluiria as combinações 1 a 6 (Quadro VIII). Neste contexto, a média geral das estimativas dos parâmetros do modelo de Wood para a produção de leite é de $a=17,0$, $b=0,25$ e $c=0,00575$. Estes valores estão incluídos na variedade de resultados apresentados em trabalhos realizados com dados do contraste leiteiro nacional ($a=14,0$, $b=0,28$ e $c=0,00516$, CRUZ *et al.* (1996); $a=17,2$, $b=0,24$ e $c=0,00610$, SILVESTRE *et al.* (1996); $a=16,9$, $b=0,20$ e $c=0,00457$, SILVESTRE *et al.* (1998)) e noutros países ($a=31,6$, $b=0,212$ e $c=0,00302$, FERRIS *et al.* (1985); $a=12,8$, $b=0,176$ e $c=0,00378$, STRANDBERG e LUNDBERG. (1991). Porém, nem todos os resultados da bibliografia são comparáveis porque alguns autores ajustam o modelo de Wood após transformação logarítmica (WOOD, 1979; SHANKS *et al.*, 1981) ou utilizam como unidade de tempo a semana (WOOD, 1979; DIJKSTRA *et al.*, 1997) ou o mês (TOZER e HUFFAKER, 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho estudámos a lactação enquanto conjunto de 3 curvas de produção (leite, gordura e proteína) e duas curvas de composição (teor butiroso e teor proteico) tendo para esse efeito utilizado o modelo de Wood. Concluimos que este não ajusta com a mesma eficiência as 5 curvas, sendo a CPL e a CTB as que apresentam os melhores e piores resultados.

As 157293 lactações apresentaram 495 combinações de curvas. Sucede porém que as 9 combinações de maior frequência reúnem 51% das lactações e

quando considerámos apenas as 32104 lactações com $R_c > 0,5$ para os 5 tipos de curvas observámos uma redução na variabilidade de formas (248 combinações, sendo que as 6 de maior frequência reúnem 52% das lactações).

O confronto entre a representação gráfica das várias curvas estimadas permite concluir que o modelo de Wood retractou adequadamente as 5 curvas. Porém, importa salientar que a periodicidade mensal de recolha dos dados poderá não representar bem algumas das lactações.

A variabilidade de combinações de formas de curvas foi elevada. Na combinação mais frequente as produções de leite, gordura e proteína apresentam a mesma forma de variação, com os teores butíroso e proteico a variarem de forma inversa.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Estação de Apoio à Bovinicultura Leiteira de Verdemilho a disponibilização dos dados que constituíram a base deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- Batra, T. R., 1986. Comparison of two mathematical models in fitting lactation curves for pureline and crossline dairy cows. *Canadian J. Animal Science*, 66: 405-417.
- Boer, J. A. de, Weller, J. I., Gipson, T. A. e Grossman, M., 1989. Multiphasic analysis of milk and fat yield curves of Israeli Holsteins. *J. Dairy Science*, 72: 2143-2152.
- Chamberlain, A. T. e Wilkinson, J. M., 1996. *Feeding the Dairy Cow*. Chalcombe Publications, UK, 241 p.
- Congleton Jr., e Everett, R. W., 1980. Application of the incomplete gamma function to predict cumulative milk production. *J. Dairy Science*, 63: 109-119.
- Cruz, A., Carolino, N. e Gama, L.T., 1996. Curvas de lactação em bovinos da raça Frísia: Efeitos da estação do ano e número de lactação. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, Ano III (2): 117-136.
- Diário da República nº243 1ª Série-B, Portaria nº 1066/91 de 22 de Outubro. (Regulamentação do contaste bovino leiteiro).
- Dijkstra, J., France, J., Dhanoa, M.S., Maas, J.A., Hanigan, M.D., Rook, A.J.e. Beaver, D.E., 1997. A model to Describe Growth Patterns of the Mammary Gland During Pregnancy and Lactation. *J. Dairy Science*, 80: 2340-2354.
- Ferris, T.A., Mao, I.L. e Anderson, C.R., 1985. Selecting for lactation curves and milk yield in dairy cattle. *J. Dairy Science*, 68: 1438-1448.
- Goodall, E.A., 1986. Prediction of milk and milk solids production. *Agricultural Systems* 21: 189-200.
- ICAR – International Committee for Animal Recording, 1995. Appendices to the International Agreement of Recording practices. Via A. Torlonia 15/A, 1-00161 Rome, Italy.

- Kellogg, D. W., Urquhart, N. S. e Ortega, A. J., 1977. Estimating lactation curves with a gamma curve. *J. Dairy Science*, 55: 1308-1315.
- Kolb, E., 1987. *Fisiologia Veterinária*. Editora Guanabara, 4ª edição, 611 pp.
- Microsoft Visual Foxpro 6.0. Copyright (c) 1988-1998 Microsoft Corporation.
- Pérochon, L., Coulon, J.B., e Lescourret, F., 1996. Modelling lactation curves of dairy cows with emphasis on individual variability. *Animal Science*, 63: 189-200.
- Rowlands, G. J., Lucey, S. e Russell, A. M., 1982. A comparison of different models of the lactation curve in dairy cattle. *Animal Production*, 35: 135-144.
- Schneeberger, M., 1981. Inheritance of lactation curve in Swiss Brown Cattle. *J. Dairy Science*, 64: 475-483.
- Scott, T.A., Yandell, B., Zepeda, L., Shaver, R.D e Smith, T.R., 1996. Use of Lactation Curves for Analysis of Milk Production Data. *J. Dairy Science*, 79: 1885-1894.
- Shanks, R.D., Berger, P.J., Freeman, A.E. e Dickinson, F.N., 1981. Genetic aspects of lactation curves. *J. Dairy Science*, 64: 1852-1860.
- Sherchand, I., Mcnew, r.w., Kellogg e Johnson, z.b, 1995. Seletion of a Mathematical Model to Generate Lactation Curves Using Milk Yields of Holstein Cows. *J. Dairy Science*, 78: 2507-2513.
- Silvestre, A. M. D., Colaço, J., Petim, F., 1996. Modelação de curvas de lactação: Perspectivas de aplicação a dados do contraste leiteiro. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, Ano III (2): 45-58.
- Silvestre, A. M. D., Petim-Batista, M. F. S. e Colaço, J., 1998. Sazonalidade na Curva de Lactação. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, Ano V (2): 17-28.
- Stanton, T. L., Jones, L. R., Everett, R. W. e Kachman, S. D., 1992. Estimating milk, fat and protein lactation curves with a test day model. *J. Dairy Science*, 75: 1691-1700.
- Strandberg, E. e Lundberg, C., 1991. A note on the estimation of environmental effects on lactation curves. *Animal Production*, 53: 399-402.
- Tozer, P.R. e Huffaker, R.G., 1999. Mathematical equations to describe lactation curves of Holstein-Frisian cows in South Wales. *Aust. J. Agric. Res.*, 50: 431-440.
- Vargas, B., Perez, E., Van Arendonk, J. A. M., 1998. Analysis of Test Day Yield Data of Costa Rican Dairy Cattle. *J. Science*, 81: 255 - 263.
- Webster, J., 1987. *Understanding the dairy cow*. BSP Professional Books.
- Wilkinson, L., Hill, M., Welna, J. P., Birkenbeuel, G. K., 1992. *Systat for Windows, Version 5.* Systat, Inc., Evanston, Illinois.
- Wood, P. D. P., 1967. Algebraic model of the lactation curve in cattle. *Nature*, London 216: 164-165.
- Wood, P. D. P., 1976. Algebraic models of the lactation curves for milk, fat and protein production, with estimates of seasonal variation. *Animal Production*, 22: 35-40.
- Wood, P. D. P., 1979. A simple model of lactation curves for milk yield, food requirement and body weight. *Animal Production*, 28: 55-63.
- Wood, P. D. P., 1980. Breed variations in the shape of the lactation curve of cattle and their implications for efficiency. *Animal Production*, 31: 133-141.

Wood, P. D. P., King, J. O. L. e Youdan, P. G., 1980. Relationships between size, live-weight change and milk production characters in early lactation in dairy cattle. *Animal Production*, 31: 143-151.

CHARACTERIZATION OF A PLACENTAL CELL MONOLAYER CULTURE FOR *IN VITRO* BOVINE EMBRYO DEVELOPMENT

R.M. PEREIRA, C.C. MARQUES, M.C. BAPTISTA, M.I. VASQUES e A.E.M. HORTA

Estação Zootécnica Nacional - INIA, Departamento de Fisiologia e Reprodução Animal, 2000 Vale de Santarém. dfra.ezn@mail.telepac.pt

(Aceite para publicação em 15 de Julho de 2002)

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of a co-culture system using placental trophoblastic cells incubated with different types of sera on development of *in vitro* fertilized ova into blastocysts. Placental cells were isolated by trypsinization of bovine fetal cotyledones purchased at a local abattoir. These cells were incubated with 1) TCM199 and 10% FCS, 2) TCM199 and FCS from the first culture day (Dc0) to second culture day (Dc2) and with SOCS from Dc2 to Dc17 and 3) TCM199 and FCS from Dc0 to Dc8-9 and with SOCS from Dc8-9 to Dc17. Tripzan blue (0.8%) and acetolacmoid (1%) stains were added to culture at Dc0, Dc4, Dc7, Dc10, Dc14 e Dc17 for cell characterization and counting. Twenty two hours after *in vitro* fertilization bovine oocytes were transferred to monolayers of placental cells either at Dc2 (Experiment 1 - P1) or at Dc8-9 (Experiment 2), supplemented with SOCS from either Dc2 (PDc2) or Dc8-9 (PDc8-9). Results from these later groups were compared to those obtained after transferring embryos to monolayers of granulosa cells at Dc2. The percentage of cultured binucleate cells ranged from 17.5 to 22.97% of all placental cells, these values were not significantly related to placental age, days of cell culture and different sera tested. Cell viability rates increased immediately after Dc0, presenting the highest values between Dc10 and Dc17 (90.7% to 96.7%). Embryo transfer to placental cells at Dc2 resulted in lower cleavage rate, embryo quality at eight days old (D8) and extrusion rate, than embryos transferred to granulosa cells at Dc2 (cleavage: Gr = 74.01% vs. P1 = 64.94%; D8 embryo quality grade 4: Gr=15.78 vs. P1 = 69.23%; extrusion: Gr = 87.5% vs. P1 = 7.1%). When co-cultured with placental cell monolayers at Dc8-9, embryos showed no significant differences in cleavage (Gr = 67.05% vs. PD_{c2} = 67.66% vs. PD_{c8-9} = 72.42%), and extrusion rates (Gr = 66.7% vs. PD_{c2} = 48.3% vs. PD_{c8-9} = 56%), when compared to embryos co-cultured with granulosa cells at Dc2. Nevertheless, later embryos showed significantly higher number and quality at D8. These results suggest that placental cells at Dc8-9 are a more favourable medium for embryo development when used SOCS only after Dc8-9.

Key words: bovine, FCS and SOCS sera, *in vitro* embryos, placental cell monolayers

CARACTERIZAÇÃO DE UMA CULTURA DE CÉLULAS PLACENTÁRIAS EM MONOCAMADA PARA SUPORTE DO DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*

RESUMO

Pretendemos avaliar a capacidade das células epiteliais trofoblásticas da placenta, cultivadas com meios de cultura com diferentes soros, para suportarem o desenvolvimento embrionário bovino *in vitro*. As células placentárias foram obtidas por tripsinização de cotilédones fetais provenientes do matadouro e cultivadas em: 1) TCM199 com 10% de soro bovino fetal (FCS), 2) TCM199 com FCS até ao segundo dia de cultura das células (Dc₂) e soro de vaca em cio superovulada (SOCS) até Dc₁₇, ou 3) TCM199 com FCS até Dc₈₋₉ e SOCS até Dc₁₇. Estas células foram coradas com acetolacmóide a 1% e azul tripan a 0,8% em Dc₀, Dc₄, Dc₇, Dc₁₀, Dc₁₄ e Dc₁₇ para caracterização e contagem das células. Os oócitos maturados e fertilizados *in vitro* foram transferidos para as monocamadas de células 22 horas após a inseminação, tendo sido realizado um 1º ensaio, com células de placenta na 1ª semana de cultura em monocamada (P1), e um 2º, com células de placenta na 2ª semana de cultura, suplementadas com SOCS a partir de Dc₂ (PD_{C₂}) ou Dc₈₋₉ (PD_{C₈₋₉}), sendo ambos comparados com os resultados obtidos com a co-cultura dos embriões com as células da granulosa (Gr). A percentagem de células binucleadas presentes nas células do epitélio trofoblástico em cultura em monocamada apresentou valores médios entre 17,5 e 22,97%, valores independentes da idade do feto das placentas utilizadas, dos dias de permanência em cultura e dos diferentes soros testados nos meios de cultura. Quanto à percentagem de células viáveis verificou-se um aumento de viabilidade depois de Dc₀, tendo-se obtido valores de 90,7 a 96,7% entre Dc₁₀ e Dc₁₇. Quanto à capacidade deste sistema de suportar o desenvolvimento embrionário verificou-se existirem piores condições de cultura dos embriões com células P1, sendo todos os valores significativamente superiores no grupo da granulosa (clivagem: Gr = 74,01% vs. P1 = 64,94%; qualidade de embriões com 8 dias de idade (D8) de grau 4: Gr=15,78 vs. P1 = 69,23%; embriões extrusados: Gr = 87,5% vs. P1 = 7,1%). Na 2ª semana de cultura das células placentárias, as clivagens (Gr = 67,05% vs. PD_{C₂} = 67,66% vs. PD_{C₈₋₉} = 72,42%), assim como a percentagem de embriões extrusados (Gr = 66,7% vs. PD_{C₂} = 48,3% vs. PD_{C₈₋₉} = 56%) não apresentaram diferenças significativas. Já a percentagem de embriões D8 era significativamente superior e os embriões de melhor qualidade na co-cultura destes com as células da granulosa. Estes resultados apontam para uma melhoria das condições proporcionadas aos embriões quando são cultivados com células placentárias já na 2ª semana de cultura e em meio com SOCS apenas a partir do dia 8-9 da cultura celular.

Palavras-chave: bovinos, embriões *in vitro*, monocamadas de células placentárias, soros FCS e SOCS

INTRODUÇÃO

A tecnologia da produção *in vitro* de embriões bovinos tem tido um grande desenvolvimento na última década sem contudo se conseguir otimizar os resultados. De facto, o número e a viabilidade dos embriões obtidos é reduzida, existindo ainda uma grande variabilidade dos resultados entre laboratórios e mesmo entre sessões do mesmo laboratório (Gordon, 1994; Thompson e Duganzich, 1996).

Torna-se assim necessário procurar novas estratégias para resolver estes problemas. O objectivo deste trabalho foi desenvolver um sistema de cultura de células do epitélio trofoblástico em monocamada e tentar depois utilizá-las para a co-cultura dos embriões.

MATERIAIS E MÉTODOS

Colheita de tecidos

A recolha de ovários e placentas bovinas foi realizada no matadouro de Santarém logo após o abate, procedendo-se à medição do “crown-rump” dos fetos donde provinham as placentas.

Os ovários e placentas destinados à obtenção de células para cultura em monocamadas foram transportados para o laboratório em PBS a 0 - 4 °C (0,15% de BSA+ 0,05 mg ml⁻¹ de kanamicina + 0,25 mg ml⁻¹ anfotericina B).

Cultura das células da placenta e da granulosa

a) células da placenta

Procedeu-se à digestão enzimática (0,25% tripsina em solução balanceada de Hank sem Ca⁺⁺ e Mg⁺⁺) dos cotilédones fetais para obtenção das células epiteliais trofoblásticas de 4 placentas. Estas células eram suspensas em meio de cultura (TCM199 + 10% de FCS + 100 UI ml⁻¹ de penicilina, 100 µg ml⁻¹ de estreptomicina e 200 µg ml⁻¹ neomicina + 0,25 µg ml⁻¹ anfotericina B), sendo retiradas alíquotas para se proceder à identificação e contagem das células na câmara de Neubauer (corante vital – azul tripan a 0,8% e corante nuclear – lacmóide a 1% em ácido acético a 45° para diferenciar as células mono e binucleadas).

Para a cultura das células placentárias em monocamada colocaram-se 8 gotas de 100 ml da suspensão celular (2 a 4,5 x 10⁵ células ml⁻¹) em placa de Petri, submersas em óleo mineral, que permaneceram na estufa incubadora em ambiente saturado de humidade, com 5% CO₂ e a 39 °C durante 3 semanas. Estas placas eram refrescadas com meio de cultura (50 ml de cada vez, 3 vezes)

de 48 em 48 h.

Uma vez que em trabalhos anteriores obtivemos embriões de melhor qualidade e com maior velocidade de crescimento com a utilização de SOCS nos meios de cultura de embriões (Pereira *et al.*, 1997), foi utilizado este soro no meio de cultura para refrescamento das células placentárias, comparando-o com o FCS. O SOCS foi introduzido em diferentes dias de cultura das células (dia 2 e dias 8 ou 9, correspondendo aos momentos de introdução dos embriões para a co-cultura) para estudar a sua influência no crescimento destas e no dos embriões. Foram assim instituídos 3 tratamentos: 1º Grupo PFCS: Dc0 (FCS) Dc17; 2º Grupo P_{Dc2}SOCS: Dc0 (FCS) Dc2 (SOCS) Dc17; 3º Grupo P_{Dc8-9}SOCS: Dc0 (FCS) Dc8-9 (SOCS) Dc17.

Neste estudo foram utilizadas 4 placentas de fetos com 6, 35, 50 e 60 cm. Procedeu-se à caracterização do padrão de crescimento das células placentárias em monocamada, pela raspagem e recolha das células das gotas nos dias 3, 7, 10, 14 e 17 de cultura. Determinou-se o número e tipo de células obtidas e percentagem de células vivas no hemacitómetro pela técnica já descrita, fazendo-se sempre 3 repetições por tratamento e para cada data de cultura, num total de 192 sessões.

b) células da granulosa

Procedeu-se à aspiração dos folículos com 2 a 6 mm de diâmetro dos ovários transportados a 4 °C. As células obtidas após lavagem e pipetagem eram suspensas em meio de cultura (TCM199 + 10% SOCS + 100 UI ml⁻¹ de penicilina, 100 µg ml⁻¹ de estreptomicina e 200 µg ml⁻¹ neomicina) e colocadas em placas de Petri de forma idêntica à já descrita para as células da placenta, sendo refrescadas de 48 em 48 h com o meio referido.

O tratamento estatístico para avaliar diferenças relativamente à viabilidade e ao tipo de células em cultura, entre placentas de diferentes fetos, soros do meio de cultura e dias de cultura com as respectivas interações, baseou-se no modelo linear completamente casualizado, utilizando a análise de variância múltipla e análises de variância simples associadas ao método das menores diferenças significativas – LSD (ANOVA/MANOVA; StatSoft, Inc., 1995).

Produção e cultura dos embriões

Os oócitos foram recolhidos pela aspiração dos folículos com 2 a 6 mm de diâmetro de ovários bovinos transportados do matadouro em PBS a 37 °C. Os complexos cumulus-oócitos aspirados foram colocados em meio de cultura

(TCM199 + 10% SOCS + 100 UI ml⁻¹ de penicilina, 100 µg ml⁻¹ de estreptomicina e 200 µg ml⁻¹ neomicina) dentro duma estufa incubadora a 39 °C, com 5% de CO₂ e saturada de humidade durante 22 a 24 h. Após este período, os oócitos maturados foram inseminados com sêmen bovino descongelado e submetido a um processo de swim-up em meio Talp. Os oócitos e espermatozóides permaneceram 22 h no meio de fertilização (gotas de 40 ml com 10 oócitos em cada), após o que foram transferidos para as monocamadas de células placentárias e da granulosa onde permaneciam 12 dias.

Experiência 1. Efeito do tipo de células em co-cultura - placenta na 1^a semana (P1) v.s. granulosa (Gr) sobre a produção de embriões, utilizando 5 réplicas por grupo.

Os presumíveis embriões foram transferidos para gotas de 100µl com monocamadas de células da placenta (n=194) ou da granulosa (n=177) nos dias 2 ou 3 de cultura dessas células e refrescados diariamente com meio de cultura (TCM199 + 10% SOCS + 100 UI ml⁻¹ de penicilina, 100 µg ml⁻¹ de estreptomicina e 200 µg ml⁻¹ neomicina + 0,25 µg ml⁻¹ anfotericina B). A clivagem foi avaliada 24 horas após a transferência e o desenvolvimento dos embriões a partir do dia 7 (D7) até ao 12 ou 13 de idade. A qualidade dos embriões foi classificada morfológicamente no D8, de acordo com um escala de 1- Muito bom a 4- Mau.

Experiência 2. Efeito do tipo de células em co-cultura - placenta 2^a semana cultivada com meio suplementado com FCS ou SOCS vs. granulosa sobre a produção de embriões, utilizando 6 réplicas por grupo.

Os presumíveis embriões foram transferidos para as monocamadas de células da placenta nos dias 8 ou 9 de cultura, tendo estas células sido refrescadas com SOCS a partir do 2^o dia de cultura (P_{Dc2}SOCS; n=368) ou apenas a partir do 8^o ou 9^o dia de cultura (P_{Dc8-9}SOCS, n=330), ou da granulosa no dia 2 de cultura dessas células (Gr, n=428). A clivagem foi avaliada 24 h após a transferência e a qualidade e desenvolvimento dos embriões a partir do dia 8 até ao dia 12 ou 13 de idade.

O tratamento estatístico destes dados foi realizado pelo teste do qui-quadrado em tabelas de contingência 2x2, através da comparação dos valores obtidos em cada grupo no somatório de todas as réplicas (StatSoft, Inc., 1995).

RESULTADOS

Caracterização da cultura

A percentagem de células binucleadas presentes nas células do epitélio trofoblástico em cultura em monocamada apresentou valores médios entre 17,5

e 22,97%, valores independentes do tamanho do feto das placentas utilizadas (Factor 1: 6, 35, 50 e 60 cm; $F_{[3,120]}=0,27$; $p<0,848$), dos dias de permanência em cultura (Factor 2: Dc0, Dc3, Dc7, Dc10, Dc14 e Dc17; $F_{[5,120]}=1,71$; $p<0,137$) e dos diferentes tipos de soros testados nos meios de cultura (Factor 3: FCS, Dc2 SOCS e Dc8-9SOCS; $F_{[2,120]}=0,30$; $p<0,739$) (Interacções: $1 \times 2_{[15,120]}$, $p<0,808$; $1 \times 3_{[6,120]}$, $p<0,976$; $2 \times 3_{[10,120]}$, $p<0,672$; $1 \times 2 \times 3_{[30,120]}$, $p<0,998$).

Quanto à percentagem de células viáveis em cultura, houve interacção significativa entre o tamanho do feto e os dias de cultura ($F_{[15,120]}=2,47$; $p<0,0035$), verificando-se uma subida da viabilidade depois de Dc0, com valores de 90,7 a 96,5% de células viáveis no feto de 6 cm entre Dc10 e Dc17 (figura 1).

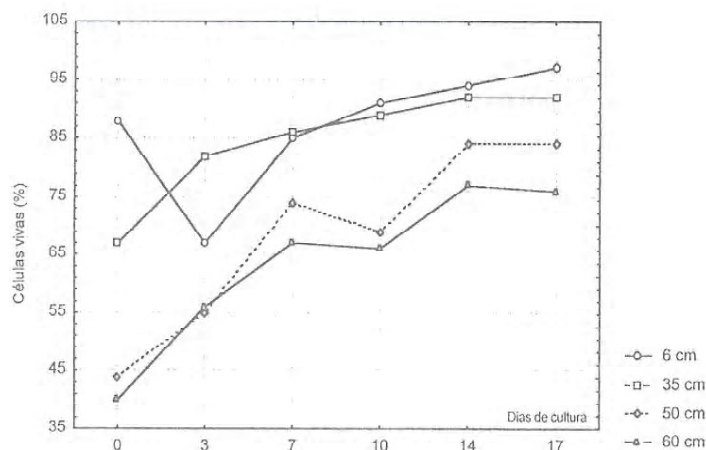


Figura 1. Células vivas ao longo da cultura a partir de placentas de diferentes dimensões ("crown rump" em cm).

A vitalidade das culturas de acordo com o tipo de soro incorporado nos meios de cultura está representada na figura 2, onde se mostra que o grupo PD_{c8-9}SOCS é o que apresenta maior persistência e uniformidade no incremento de células vivas ao longo da cultura, embora não se tenha observado interacção significativa entre estes factores ($F_{[10,120]}=0,532$; $p<0,865$). Não foi observada interacção significativa entre os três factores ($F_{[30,120]}=0,645$; $p<0,918$).

Produção de embriões

Os resultados obtidos na co-cultura de embriões com células de placenta na 1ª semana os resultados comparados com os da granulosa (Quadro I) mostram uma clivagem significativamente superior ($P<0,01$) nestas últimas células, assim como na percentagem de embriões extrusados.

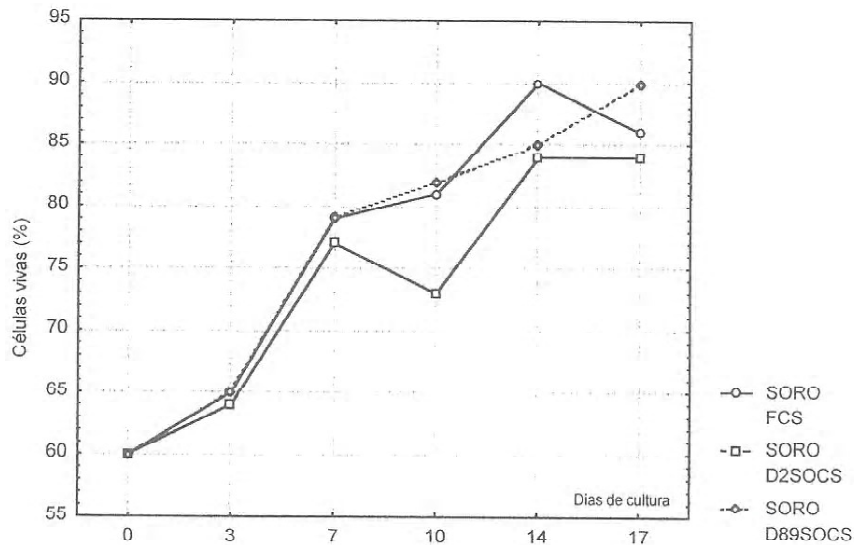


Figura 2. Células vivas ao longo da cultura após diferentes tratamentos.

QUADRO I - EFEITO DA CO-CULTURA COM CÉLULAS DA PLACENTA 1ª SEMANA V.S. GRANULOSA SOBRE A PRODUÇÃO DE EMBRIÕES.

Grupos	n	Embriões clivados		Embriões em D8		Embriões Extrusados	
		n	%	n	%	n	%
Granulosa	177	131	74,01	19	14,5	14	87,5
Placenta 1ª semana	194	126	64,94	13	10,31	17	7,7
Valor de P (χ^2)		P<0,01		P>0,05		P<0,0001	

Não foram encontradas diferenças significativas ($P>0,05$) na percentagem de embriões D8 (total de embriões viáveis com 8 dias de idade / embriões clivados $\times 100$), mas quanto à qualidade (Fig. 3 e Quadro II) houve mais embriões ($P=0,002$) de grau 4 (maus) nos embriões cultivados com células da placenta.

Na segunda semana de cultura das células placentárias houve uma melhoria das clivagens e extrusão dos embriões cultivados nestas células, não diferindo ($P>0,05$) dos valores obtidos com as células da granulosa (Quadro III). Já a percentagem de embriões D8 era significativamente superior ($P<0,05$) na co-cultura destes com as células da granulosa e de melhor qualidade (Fig. 4 e Quadro IV). No entanto, o tratamento P_{Dc2} SOCS apresenta mais embriões de grau 4 e o P_{Dc8-9} SOCS mais de grau 3.

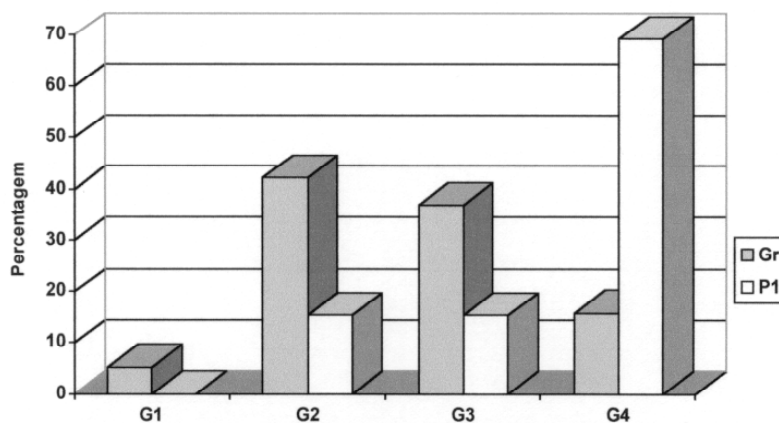


Figura 3. Qualidade dos embriões D8 em co-cultura com células da granulosa e placenta 1ª semana (G1-Muito Bom; G4-Mau).

QUADRO II - EFEITO DA CO-CULTURA COM CÉLULAS DA PLACENTA 1ª SEMANA V.S. GRANULOSA SOBRE A QUALIDADE DOS EMBRIÕES D8.

Grupos	Qualidade dos embriões D8 (%)			
	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Granulosa	5,26	42,1	36,84	15,79a
Placenta 1ª semana	0	15,38	15,38	69,23b
Valor de P (χ^2)	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P=0,002

QUADRO III - EFEITO DA CO-CULTURA COM CÉLULAS DA PLACENTA A PARTIR DA 2ª SEMANA (PDc2SOCS E PDc8-9SOCS) E DA GRANULOSA SOBRE A PRODUÇÃO DE EMBRIÕES.

Grupos	n	Embriões clivados		Embriões em D8		Embriões Extrusados	
		n	%	n	%	n	%
I Š Granulosa	428	287	67,05a	51	17,77a	34	66,7a
II Š PDc2SOCS	368	249	67,66a	29	11,64b	14	48,3b
III Š PDc8-9SOCS	330	239	72,42a	25	10,46b	14	56ab
Valor de P (χ^2)		I-III P=0,11 II-III P=0,17		I-II P<0,05 I-III P<0,02		I-II P=0,06	

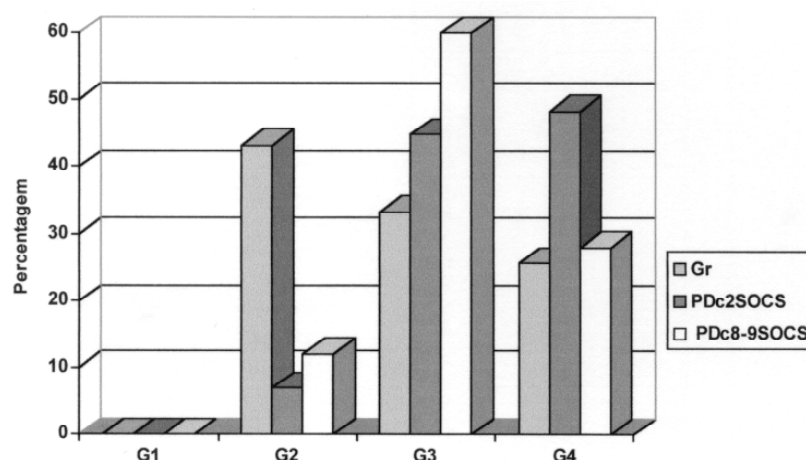


Figura 4. Qualidade dos embriões D8 em cultura com células da granulosa e placenta (PDc2SOCS e PDc8-9SOCS) (G1-Muito bom; G4.Mau).

QUADRO IV - EFEITO DA CO-CULTURA COM CÉLULAS DA PLACENTA A PARTIR DA 2ª SEMANA (PDc2SOCS e PDc8-9SOCS) E DA GRANULOSA SOBRE A QUALIDADE DOS EMBRIÕES D8.

Grupos	Qualidade dos embriões D8 (%)			
	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
I - Granulosa	0	43,13a	33,33a	23,52a
II - PDc2SOCS	0	6,89b	44,82ab	48,27b
III - PDc8-9SOCS	0	12b	60b	28a
Valor de P (χ^2)		I-II: P=0,001 I-III: P=0,007	I-III: P=0,02	I-II: P=0,02

DISCUSSÃO

A co-cultura de embriões bovinos com células somáticas permite ultrapassar o bloqueio no estágio de 8-16 células e estimula o desenvolvimento embrionário *in vitro* (Ellington *et al.*, 1990; Nakao e Nakatsuji, 1990; Pollard *et al.*, 1991). Este efeito não é específico das células do tracto genital ou da espécie em causa (Aoyagi *et al.*, 1990; Goto *et al.*, 1992).

As células da placenta vocacionadas para a gestação e capazes de sintetizar substâncias específicas da gestação (proteínas, prostaglandinas e esteróides) poderiam servir de suporte e estimular o desenvolvimento embrionário, contribuindo para a manutenção dum micro-ambiente propício a este desenvolvimento. Esta situação parece não ocorrer na 1ª semana de cultura das

células trofoblásticas placentárias e embriões, melhorando quando a co-cultura tem início na 2ª semana de cultura das referidas células.

As percentagens de células binucleadas no epitélio trofoblástico da placenta obtidas, estão de acordo com os resultados apresentados por vários autores (20 a 25% - Gross e Williams, 1987, 1988 e 15 a 22% - Hoffman e Wooding, 1993). Estas células em cultura têm tendência para desenvolver material granular no citoplasma e vacúolos no citoplasma à volta do núcleo, começando depois a degenerar (Dessai e Williams, 1990). Shemesh *et al.* (1984) referem a existência de alterações na morfologia das células ao longo da cultura, com a diminuição das células mononucleadas e o aparecimento de massas com múltiplos núcleos e citoplasma granular ao fim de 2-3 semanas. Estes dados corroboram a maior dificuldade de identificação das células binucleadas ao longo da cultura, mas não o desaparecimento das células mononucleadas no período de cultura estudado.

A incorporação de soro nos meios de cultura de células e embriões constitui um suplemento de proteínas, hormonas e factores de crescimento utilizado pela maioria dos autores para estimular o seu crescimento. O SOCS utilizado nos meios de cultura, embora proporcionando embriões de melhor qualidade e com maior velocidade de crescimento nas co-culturas com células da granulosa (Pereira *et al.*, 1997; Vasques *et al.*, 1998), parece não ser o ideal para a fase inicial da cultura das células placentárias. Estas células apresentam melhores resultados quando utilizado o FCS nesta fase.

A melhoria das condições proporcionadas aos embriões pelas células da placenta na 2ª semana de cultura poderá resultar da ausência da confluência total (monocamada) destas células na 1ª semana de cultura e da melhor viabilidade das mesmas a partir da 2ª semana. Esta melhoria das condições proporcionadas aos embriões quando são cultivados com células placentárias na 2ª semana de cultura e em meio com SOCS a partir do dia 8-9 da cultura celular, verifica-se sobretudo na fase de clivagem, havendo a necessidade de melhorar o sistema para a produção de embriões transferíveis.

BIBLIOGRAFIA

- AOYAGI, Y., FUKUI, Y., IWAZUMI, Y., URAKAWA, M. e ONO, H., 1990. Effects of culture systems on development of *in vitro* fertilized bovine ova into blastocysts. *Theriogenology*, 34: 749-759.
- DESSAI, D.S. e WILLIAMS, W.F., 1990. Differentiation of binucleated cells from trophoblast cells in culture. *J. Dairy Sci.*, 73 (suppl. 1): 180 abst.

- ELLINGTON, J.E., CARNEY, E.W., FARREL, P.B., SIMKIN, M.E. e FOOTE, J.E., 1990. Bovine 1-2-cell embryo development using a simple medium in three oviduct epithelial cell coculture systems. *Biol. Reprod.*, 43: 97-104.
- GORDON, I., 1994. Laboratory production of cattle embryos. in *Biotechnology in Agriculture*, nº 11. Ed. Persley, G.J.. University Press, Cambridge, U.K. pp. 640.
- GOTO, K., IWAI, N., TAKUMA, Y. e NAKANISHI, Y., 1992. Co-culture of *in vitro* fertilized bovine embryos with different monolayers. *J. Anim. Sci.*, 70: 1449-1453.
- GROSS, T.S. e WILLIAMS, W.F., 1988. Bovine placental prostaglandin synthesis: principal cells modulated by the binucleated cells. *Biol. Reprod.*, 38: 1027-1034.
- GROSS, T.S., WILLIAMS, W.F., MANSPEAKER, J.E., LEWIS, G.S. e RUSSEK-COHEN, E., 1987. Bovine placental prostaglandin synthesis *in vitro* as it relates to placental separation. *Prostaglandins*, 34: 903-917.
- HOFFMAN, L.H. e WOODING, F.B.P., 1993. Giant and binucleate trophoblast cells of mammals. *J. Exp. Zool.*, 266: 559-577.
- NAKAO, H. e NAKATSUJI, N., 1990. Effects of co-culture, medium components and gas phase on *in vitro* matured and *in vitro* fertilized bovine embryos. *Theriogenology*, 33: 591-600.
- PEREIRA, R.M., VASQUES, M.I., MARQUES, C.C., BAPTISTA, M.C. e HORTA, A.E.M., 1997. Efeito do soro de vacas em cio superovuladas sobre a produção *in vitro* de embriões bovinos e a síntese de progesterona por monocamadas de células da granulosa. 1º Congresso Ibérico de Reprodução Animal, Estoril - 3 a 6 de Julho , vol. II, pp. 128-135.
- POLLARD, J.W., SCODRAS, J.M., PLANTE, W.A., KING, W.A. e BETTERIDGE, K.J., 1991. Definition on the cleavage stage(s) at which oviductal epithelial cells enable bovine embryos to pass through the *in vitro* 8-16-cell block. *Theriogenology*, 35: 256 abst.
- SHEMESH, M., HANSEL, W., STRAUSS, J.F., RAFAELI, A., LAVI, S. e MILEGUIR, F., 1984. Controle of prostanoid synthesis in bovine trophoblast and placentome. *Anim. Reprod. Sci.*, 7: 177-194.
- StatSoft, Inc., 1995. *STATISTICA for Windows* [Computer program manual]. Tulsa, OK.
- THOMPSON, J.G. e DUGANZICH, D., 1996. Analysis of culture systems for bovine *in vitro* embryo production. *Theriogenology*, 45: 195 abst.
- VASQUES, M.I., MARQUES, C.C., PEREIRA, R.M., BAPTISTA, M.C. e HORTA, A.E.M., 1998. Efeito luteotrófico de embriões bovinos e de diferentes tipos de soros sobre células da granulosa cultivadas *in vitro*. *Rev. Port. Cienc. Vet.*, 23: 25-30.

EFFECTS OF FEEDING REGIME AND SEX ON THE CARCASS COMPOSITION OF MERINO BRANCO LAMBS AT THE SAME CARCASS WEIGHT

J.A.SIMÕES¹ I. A. MENDES¹, A. SENDIM² e R. QUINTELA²

1-Estação Zootécnica Nacional – Fonte Boa- 2005-048 Vale de Santarém
Correio electrónico: uc.ezn@mail.telepac.pt; 2-Acomor – Associação de Criadores de Ovinos de Montemor-o-Novo, Parque de Leilões/Exposições, Apartado 203, 7050 Montemor-o-Novo

(Aceite para publicação em 15 de Julho de 2002)

ABSTRACT

Carcass characteristics of lambs of Merino Branco Regional, in Spring and Summer production systems were compared. A total of 48 lambs, 24 male and 24 female, age between 90-120 days, were involved. Data were adjusted to equal carcass weight. Significant differences ($P<0.001$) were recorded between Spring and Summer lambs in proportion of muscle, 62.39% and 58.22%, respectively; and in amount of total fat (sub fat, inter fat and kkc), 17.29% for Spring lambs, and 20.77% for the Summer lambs ($P<0.05$). The significant ($P<0.001$) higher amount of intermuscular fat in the Summer lambs, 11.18% versus 9.00% for Spring lambs were account for the differences in total fat. The sub fat shows a tendency for an higher amount in Summer lambs although not significant different. They were not found significant differences between sexes.

Key words: carcass composition, lambs, Merino Branco

INFLUÊNCIA DO REGIME ALIMENTAR E DO SEXO NA COMPOSIÇÃO DE CARCAÇAS DE BORREGOS DA RAÇA MERINO BRANCO, A UM MESMO PESO DE CARÇAÇA

RESUMO

Um total de 48 borregos, com idades compreendidas entre os 90 e os 120 dias, foram envolvidos no ensaio. Metade são borregos produzidos na Primavera (borrego Pascoal), e a outra metade produzidos no Verão (borrego Veraniço). Em quaisquer das épocas, 12 machos e 12 fêmeas, foram seleccionados. A um mesmo peso da carcaça os borregos de Primavera têm significativamente ($p<0.001$) mais músculo, 62,39%, do que os de Verão, 58,22% e significativamente ($p< 0.05$) menos gordura total, 17,29% nos de Primavera versus 20,77% nos de Verão. A maior proporção de gordura total nos borregos de Verão deve-se exclusivamente a uma

significativamente ($p < 0.01$) mais elevada proporção de gordura intermuscular, 11,18% para os de Verão e 9,00% para os de Primavera. Relativamente ao sexo não há a registar quaisquer diferenças na composição das carcaças.

Palavras-Chave: borregos, composição das carcaças, Merino Branco

INTRODUÇÃO

Actualmente existe uma forte tendência para a produção de borregos com denominação de origem, com vista à sua valorização.

Uma dessas denominações, e à qual se reporta este trabalho, é a Indicação Geográfica “Borrego de Montemor-o-Novo”. Para beneficiar desta designação os borregos terão de ser da raça Merino Branco Regional, a qual representa cerca de 80% do efectivo ovino existente na área geográfica delimitada, abatidos entre os 90 - 120 dias de idade, com carcaças entre os 9 - 12 kg de peso, com uma proporção de gordura subcutânea entre os 6 e os 10%, correspondentes às classes 2 e 3 da grelha de classificação comunitária de borregos leves (CEE, 1992/93), provenientes de sistemas extensivos ou semi-intensivos. A alimentação dos borregos é efectuada através do leite materno (mínimo de 60 dias), pastagens (naturais ou semeadas), forragens (feno e silagem), restolhos, bolota e lande. A administração de concentrados é permitida em determinadas épocas do ano sendo interdita a utilização de quaisquer promotores de crescimento (ACOMOR, 1996).

De modo a manter uma oferta constante, ao longo do ano, os produtores consideram três épocas de produção: a época de Primavera - o borrego Pascoal - baseada numa alimentação à base de pastagem natural ou semeada e acabamento com concentrado; a época de Verão - o borrego Veraniço - também com pastagem, mas com um maior recurso a concentrados; e a época de Inverno - o borrego Natalício - caracterizado por uma alimentação à base de restolhos, alguma erva nova, lande, bolota e concentrado.

Alguns trabalhos têm sido efectuados no domínio da influência do regime alimentar sobre a composição de carcaças em borregos da raça Merino Branco. Os mais recentes são os de Santos Silva e Portugal (2000 e 2001), os quais concluem que borregos machos, quando engordados intensivamente e abatidos a vários pesos, até ao 35 kg, não apresentam diferenças significativas na composição das carcaças.

O objectivo do presente trabalho é o de estudar os efeitos das épocas de produção, Primavera suplementada e Inverno, e dos sexos, machos e fêmeas, as quais representam cerca de 35% do total dos borregos abatidos, a um dado

peso, sobre a composição das carcaças de borrego produzidas, com a denominação de Indicação Geográfica “Borrego de Montemor-o-Novo”.

MATERIAL e MÉTODOS

Animais

Um total de 48 borregos, 24 machos e 24 fêmeas, com idades compreendidas entre os 90-120 dias, provenientes de 4 explorações tidas como representativas do “Borrego de Montemor-o-Novo”, 12 borregos por exploração, 6 na Primavera (3 machos e 3 fêmeas) e 6 no Verão (3 machos e 3 fêmeas), foram seleccionados de uma maneira aleatória dentro dos borregos enviados para o Matadouro. No Quadro I expressamos a média dos pesos das carcaças dos animais seleccionados, após a refrigeração.

QUADRO I - NÚMERO DE CARCAÇAS POR REGIME E SEXO E MÉDIA E DESVIO PADRÃO PARA O PESO DA CARCAÇA (g).

REGIME	SEXO	PESO DA CARCAÇA ± DP
Primavera	F (12)	11150 ± 1860
	M (12)	10300 ± 1100
Verão	F (12)	10950 ± 1250
	M (12)	10840 ± 1160

Alimentação

Durante os primeiros 15 dias os borregos de Primavera alimentaram-se exclusivamente com leite materno. Seguiu-se um período de pastoreio conjuntamente com as mães, até aos 60 dias de idade, tendo os borregos sido suplementados com 300 g de concentrado comercial, nos últimos 30 dias. Finalmente, uma fase de acabamento, em estabulação, durante a qual, para além de palha, são suplementados com 900 g de concentrado, até aos 90-120 dias, altura em que ocorreu o abate.

Os borregos de Verão também são alimentados exclusivamente com leite durante os primeiros 15 dias mas, durante a fase de pastoreio, conjuntamente com as mães, ao contrário dos de Primavera, começam a receber concentrado, nas mesmas quantidades, com 15 a 20 dias de antecedência, relativamente aos de Primavera. A fase de acabamento é idêntica.

Dissecação

Após o abate as carcaças permaneceram durante 24 h a 6 °C, sendo seguidamente refrigeradas durante 7 dias a 0 °C. Decorrida a refrigeração as carcaças foram cortadas ao longo do plano sagital e procedeu-se à remoção da gordura renal e pélvica, de ambas as metades, de modo a obter um valor médio para este depósito.

A metade direita foi dividida segundo o corte proposto por Colomer-Rocher *et al.* (1988), obtendo-se as seguintes peças: perna, lombo, costeleta anterior, aba das costelas, pá e pescoço. Cada uma das peças foi então dissecada, obtendo-se a sua composição em músculo, gordura subcutânea, gordura intermuscular, osso e resíduo.

Estatística

Recorremos à análise de covariância, modelo factorial, considerando as variáveis regime e sexo como efeitos principais, fixos. Usamos o peso da carcaça, como covariável, de modo a estabelecer uma base comum para comparar os resultados. Os dados foram analisados recorrendo ao programa SAS de Freund, Littell e Spector (1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro II expomos os valores obtidos para os diferentes tecidos. Pela análise dos resultados na Quadro II., verificamos que os borregos de Primavera (P) a um mesmo peso de carcaça têm significativamente mais carne, 62,39%, do que os de Verão (V), 58,22%, e menos gordura total, 17,29% versus 20,77%. A maior proporção de gordura total nos borregos de Verão deve-se a uma significativamente mais elevada proporção de gordura intermuscular 11,18% versus 9,0% e à tendência, embora não significativa, para uma maior proporção de gordura subcutânea, 7,39 e 6,05%, sendo a proporção de gordura renal e pélvica praticamente igual, 2,20 e 2,24% respectivamente para os de Verão e Primavera. Os valores mais elevados para a gordura total nos borregos de Verão, alimentados com concentrados, são consistentes com os resultados de Crouse *et al.* (1981); Sully e Morgan (1982); Ahmad e Davies (1986); Miller *et al.* (1987) e Santos Silva (1999), quando compararam, planos energéticos elevados com planos mais baixos.

Relativamente ao sexo não há registar quaisquer diferenças na composição das carcaças a um mesmo peso. Porém, estes valores não estão de acordo nem com os registados por Wood *et al.* (1980), nem com os de Kempster *et al.* (1987)

onde, a um mesmo peso de carcaça, as fêmeas apresentam uma proporção mais elevada de gordura. Uma possível explicação para esta discrepância poderá ter a ver com o facto dos resultados referidos por aqueles autores se reportarem a borregos pesados, carcaças com 17-18 kg, abatidos portanto a uma proporção mais elevada do seu peso maduro do que no presente trabalho, numa fase em que o efeito inibidor dos estrogéneos, promovendo o encerramento das placas epifisárias e uma menor acção anabólica sobre o crescimento muscular do que os androgénios, , levam a maior proporção de gordura na carcaça, segundo Lawrence e Fowler (1998).

Embora a proporção de gordura total seja mais elevada nos borregos de Verão do que nos de Primavera a proporção de gordura subcutânea, que expressa acabamento, 6% para os de Primavera e 7,4% para os de Verão estão dentro da amplitude admitida para esta categoria de borregos, entre 6 e 10% de gordura, correspondentes às classes 2 e 3 da grelha de classificação comunitária para borregos leves.

QUADRO II - PERCENTAGENS DE (O), MÚSCULO (M), GORDURA TOTAL (GT), GORDURA SUBCUTÂNEA (GS), GORDURA INTERMUSCULAR (GI) E GORDURA RENAL E PÉLVICA (GRP) AJUSTADAS PARA UM MESMO PESO DE CARCAÇA (10800 g), POR REGIME E SEXO.

	O	M	GT ^f	GS	GI	GRP
Regime						
Primavera	20,33	62,39	17,29	6,05	9,00	2,24
Verão	21,01	58,22	20,77	7,39	11,18	2,20
Sexo						
F	20,61	60,47	18,93	6,46	10,23	2,24
M	20,73	60,14	19,13	6,99	9,95	2,20
EP Aprox	0,37	0,74	1,01	0,49	0,48	0,16
Significância do efeito #						
Regime	NS	***	*	NS	**	NS
Sexo	NS	NS	NS	NS	NS	NS

^f GT=(GS+GI+GRP); # as interações regime x sexo não foram significativas (P>0.05)

No Quadro III expomos os resultados para algumas relações teciduais. Pela análise dos resultados verifica-se que a relação M:O e M:GT são significativamente diferentes entre os regimes alimentares. A relação M:O com os

valores 3.07 e 2.78 respectivamente para os de P e V, e a relação M:GT com valores 3.98 e 3.21 também respectivamente para a P e V. No que concerne ao sexo não há a registar diferenças significativas para quaisquer destas relações.

QUADRO III - MÉDIAS AJUSTADAS PARA AS RELAÇÕES MÚSCULO:OSSO (M:O), GORDURA SUBCUTÂNEA:GORDURA INTERMUSCULAR (GS:GI), MÚSCULO:GORDURA TOTAL (M:GT) E PERCENTAGEM DE PEÇAS NOBRES (PN) A UM MESMO PESO DE CARÇAÇA (10800 g).

	O	M	GT ^f	GS	GI	GRP
Regime						
Primavera	20,33	62,39	17,29	6,05	9,00	2,24
Verão	21,01	58,22	20,77	7,39	11,18	2,20
Sexo						
F	20,61	60,47	18,93	6,46	10,23	2,24
M	20,73	60,14	19,13	6,99	9,95	2,20
EP Aprox	0,37	0,74	1,01	0,49	0,48	0,16
Significância do efeito #						
Regime	NS	***	*	NS	**	NS
Sexo	NS	NS	NS	NS	NS	NS

as interações regime x sexo não foram significativas (P>0.05)

A relação GS:GI não é significativamente diferente nem entre os regimes nem entre os sexos.

Sendo a relação M:O uma relação estrutural, geralmente tida como independente dos regimes alimentares, como comprovam os trabalhos de Elsey *et al.* (1964); Fowler (1968) e Lowman (1971), citados por Black (1974), e os de Buttler-Hogg e Johnson (1986), seria de esperar que não fossem significativamente diferentes entre os regimes. A não existência de diferenças significativas na relação M:O entre os sexos, em carcaças leves, está de acordo com os resultados de Janela e Santos Silva (1986) e os de Teixeira *et al.* (1996), embora em desacordo com os de Jones *et al.* (1984). Aqui, o facto de se tratarem de borregos pesados e portanto num estágio mais avançado de maturidade que poderá justificar as diferenças entre sexos.

As diferenças significativas para a relação M:GT, 3.98 e 3.21, respectivamente

para os regimes P e V nada mais são do que o reflexo da maior proporção de gordura nos borregos de Verão.

A homogeneidade na relação GS:GI entre os regimes, não obstante a maior proporção de gordura total nas carcaças dos borregos de Verão, poderá dever-se ao facto das diferenças nos ganhos médios diários, não registados no presente estudo, não serem suficientemente elevadas. Esta hipótese é sustentada pelos trabalhos de Lee (1986) e de Santos Silva (1999) os quais verificaram que quando as diferenças nos ganhos médios diários são pequenas, embora significativas, respectivamente 80 g e 50 g, a homogeneidade desta relação mantém-se. Quando as diferenças são muito acentuadas são de esperar diferenças na partição de GS e GI, como comprovou, Murray e Slezaceck (1976), em bovinos. Que as diferenças na partição dos depósitos adiposos devem ser atribuídas à velocidade de crescimento e não à composição da dieta é suportada pelo trabalho de Santos Silva e Portugal (1991), os quais submetendo borregos a duas dietas diferentes, com relações concentrado/grosseiro, de 85/15 e 40/60, e com ritmo de crescimento semelhante verificaram que não havia diferenças significativas na partição de gordura. Relativamente aos sexos a não existência de diferenças na relação GS:GI é consistente com os observados por numerosos autores, os quais apenas assinalam diferenças nas proporções de gordura renal e pélvica, Hawkins *et al.* (1985); Thompson *et al.* (1987); Thonney *et al.* (1987); Janela e Santos Silva (1986). No presente estudo a proporção de gordura renal e pélvica (Quadro II.) mantém-se constante entre os sexos, também explicável pelo facto dos borregos terem sido abatidos a uma baixa proporção do seu peso adulto, pois Alves (1990), para a gordura renal e pélvica, em borregos da raça Merino Branco, abatidos a 40, 50 e 60% do seu peso adulto, determinou crescimentos relativos de 0,49 (precoce) e de 1,26 (tardio), respectivamente para machos e fêmeas, o que necessariamente levaria a uma maior deposição de gordura renal e pélvica nas fêmeas se os abates tivessem ocorrido a pesos mais elevados.

No que concerne à proporção de peças nobres não há a registar diferenças significativas entre os sexos de acordo com o verificado por Alves (1990)

Como conclusão geral registe-se o facto das carcaças produzidas no Verão serem significativamente mais gordas do que as de Primavera, embora dentro dos limites para comercialização, sendo a gordura intermuscular responsável pela diferença registada; de não haver diferenças significativas entre sexos na composição das carcaças; e de não se terem registado interacções significativas regime x sexo, indicadoras da independência do sexo relativamente ao regime.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Ciência e Tecnologia pelo financiamento deste trabalho no âmbito do Programa Pecuário EuroAgri. À Paula Ferreira, Leonel Matos e David Rafael pela dissecação das carcaças. Ainda à Paula Ferreira pela introdução dos dados e pelo processamento do texto.

BIBLIOGRAFIA

- ACOMOR, 1996. Caderno de Especificações do Borrego de Montemor-o-Novo. Montemor-o-Novo, Portugal.
- AHMAD, N.A. e DAVIES, H.L., 1986. Effect of sex and dietary energy concentration on feed conversion ratio, growth and carcass characteristics in Merino x Border Leicester lambs. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 16:119.
- ALVES, M.I.M., 1990. Ímpetos de crescimento teciduais em machos e fêmeas da raça Merino Branco. Tese de Licenciatura em Eng. Zoot. Univ. de Évora, Portugal.
- BLACK, J.L., 1974. Manipulation of body composition through nutrition. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 10:211.
- BUTLER-HOGG, B.W. e JOHNSON, I.D., 1986. Fat partitioning and tissue distribution in crossbred ewes following different growth paths. An. Prod., 42:65.
- COLOMER-ROCHER, F., DUMONT, B.L. e MURILO FERROL, N.L., 1988. Descripción del despiece ovino aragonés y definición de un despiece de referencia normalizado. An. INIA, Ser. Prod. Anim., 79:108.
- CROUSE, J.D., BUSBOOM, J.R., FIELD, R.A. e FERREL, C.L., 1981. The effects of breed, diet, sex, location and slaughter weight on lamb growth, carcass composition and meat flavor. J. Anim. Sci., 53:376.
- EEC/92, 1993. Grelha Comunitária de Classificação de Borregos Leves. Regulamento CEE, nº 2137.
- FREUND, R.J., LITTELL, R.C. e SPECTOR, P.C., 1986. SAS System for Linear Models. SAS Institute Inc.
- HAWKINS, R.R., KEMP, J.D., ELY, D.G., FOX, J.D., MOODY, W.G. e VIMINI, R.J., 1985. Carcass and meat characteristics of crossbred lambs born to ewes of different genetic types and slaughtered at different weights. Livest. Prod. Sci., 12:241.
- JANELA, B. e SANTOS SILVA, J., 1986. Estudo comparativo do crescimento e engorda de borregos Merino da Beira Baixa e cruzados F1 (Merino Precoce x Merino da Beira Baixa). Soc. Port. Ovinic. J.N.P.P., Lisboa, Portugal.
- JONES, S. D. M., BURGESS, T. D., DUPCHALC, K. e PULLOCK, E., 1984. The growth performance and carcass composition of ram and ewe lambs fed on pasture or in confinement and slaughtered at similar fatness. Can. J. Anim. Sci., 64:631.

- KEMPSTER, A. J., CROSTON, D., GUY, D. R. e JONES, D.W., 1987. Growth and carcass characteristics of crossbred lambs by ten sire breeds, compared at the same carcass subcutaneous fat proportion. *An. Prod.*, 44:83.
- LAWRENCE, T.L.J. e FOWLER, V.R., 1997. Growth of farm animals. CAB International.
- LEE, G. J., 1886. Growth and carcass composition of ram and wether lambs fed at two levels of nutrition. *Aust. J. Exp. Agric.*, 26:275.
- MILLER, R. K., CROSS, H. R., CROUSE, J. D. e TATUM, J. D., 1987. The influence of diet and time on feed on carcass traits and quality. *Meat Sci.*, 19:303.
- MURRAY, D. M. e SLEZACEK, O., 1976. Growth rate and its effect on empty body weight, carcass weight and dissected carcass composition of cattle. *J. Agric. Sci., Cambridge*, 87:171.
- SANTOS SILVA, J., 1999. Caracterização das carcaças e da carne de borregos Merino Branco na região do Montado Português. Symposium Internacional para la caracterization de los productos ganaderos de la Dehesa. Merida (policopiado).
- SANTOS SILVA, J. e PORTUGAL, A.V., 1991. Estudo do efeito de duas relações de concentrado: grosseiro na composição de carcaças de borregos Merino Branco. *Rev. Port. Ciênc. Agrárias*, Vol. XIV: 3-5.
- SANTOS SILVA, J. e PORTUGAL, A.V., 2000. Influência do peso da carcaça na qualidade das carcaças de borregos das raças Serra da Estrela e Merino Branco produzidos em sistemas intensivos de produção. *Rev. Port. Zootecnia VII(1)*: 29-41.
- SANTOS SILVA, J. e PORTUGAL, A. V., 2001. The effects of weight on carcass and meat quality of Serra da Estrela and Merino Branco lambs fattened with dehydrated lucern. *Anim. Res.*, 50: 289-298.
- Sully, R. J. e Morgan, J. H. L., 1982. The influence of feeding level and type of feed on the carcass of steers. *Austr. J. Agric. Res.*, 33: 721.
- TEIXEIRA, A., DELFA, R. e TREACHER, T., 1996. Carcass composition and body fat depots of Galego Bragançano and crossbred lambs by Suffolk and Merino Precoce sire breeds. *Anim. Sci.*, 63: 389.
- THOMPSON, J. M., BUTTERFIELD, R. M. e PERRY, D., 1987. Food intake, growth and body composition in Australian Merino sheep, selected for high and low weaning weight. Partitioning of dissected and chemical fat in body. *An. Prod.*, 45:49.
- THONNEY, M. L., TAYLOR, St. C. S., MURRAY, J. I. e McCLELLAND, T. H., 1987. Breed and sex differences in equally mature sheep and goats. 2. Body components at slaughter. *An. Prod.*, 45:261.
- WOOD, J. D., MACFIE, J. D., POMEROY, R. W. e TWINN, D. J., 1980. Carcass composition in four sheep breeds: the importance of type of breed and stage of maturity. *J. Anim. Prod.*, 30:135.

PLACENTAL PROTEINS SECRETED IN MATERNAL CIRCULATION: USEFUL INDICATORS FOR BOTH PREGNANCY DIAGNOSIS AND EMBRYONIC MORTALITY IN BOVINE SPECIES

F. MOREIRA DA SILVA¹, N.M. SOUSA², J.R. FIGUEIREDO² e J.F. BECKERS³

¹Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias, Reprodução Animal, 9700, Angra do Heroísmo, Portugal, jsilva@angra.uac.pt; ²Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Campus do Camobi, Santa Maria-RS, CEP 97105-900, Brasil;

³Universidade de Liège, Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Fisiologia da Reprodução, B41, Sart-Tilman, B-4000, Liège, Bélgica

(Aceite para publicação em 30 de Setembro de 2002)

ABSTRACT

During the last decades, several research groups developed investigations in order to characterize proteins or glycoproteins synthesized by ruminant placenta. As result of these investigations, a large family of pregnancy-associated glycoproteins was identified in bovine ovine and caprine placenta. By using molecular biology techniques, it was demonstrated that they are members of the aspartic proteinase superfamily, in which they co-exist with pepsinogens, renin, cathepsin D and E, etc. Due to their secretion in large amounts by the trophoblastic binucleated cells, bovine PAGs are detectable in maternal circulation soon after implantation. In the present work, in addition to the physiological and biochemical characterization of bovine PAGs, it will be showed how the measurement of PAG concentrations in maternal blood is useful for both pregnancy confirmation and follow-up of the fetus-placental well-being. Available information related to other placental proteins will be also discussed.

Key words: bovine, PAG, placenta, proteins

PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS EXCRETADAS PARA A CIRCULAÇÃO MATERNA: AUXÍLIO NO DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO E NO ESTUDO DA MORTALIDADE EMBRIONÁRIA EM BOVINOS

RESUMO

Durante as últimas décadas, várias equipas de investigação têm envidado esforços para caracterizar proteínas ou glicoproteínas produzidas pela placenta dos ruminantes, a qual resultou na descoberta de uma grande família de glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) expressas na placenta de bovinos, ovinos e caprinos. Recorrendo

a técnicas de biologia molecular, as PAGs foram identificadas como pertencendo à super família das proteinases aspárticas, da qual também fazem parte os pepsinogénios, a renina, as catepsinas D e E, entre outras. Uma vez que as PAGs são produzidas em largas quantidades pelas células binucleadas do trofoblasto, os seus níveis são facilmente detectáveis na circulação materna a partir do início da gestação. No presente trabalho, além de serem caracterizados os principais aspectos fisiológicos e bioquímicos das PAGs bovinas, será demonstrada que a determinação dos níveis de PAGs são um óptimo instrumento de trabalho para o diagnóstico da gestação, servindo ainda como indicador do bem estar do feto e do estado sanitário da placenta. Informações relativas a outras proteínas placentárias serão discutidas comparativamente às informações disponíveis sobre as PAGs.

Palavras-chave: bovinos, PAG, placenta, proteínas

INTRODUÇÃO

A placenta é um sistema orgânico polivalente com uma função fisiológica vital na perpetuidade da mamíferos euterianos: o desenvolvimento fetal está relacionado com o desenvolvimento da placenta do ponto de vista anatómico, genético e metabólico. No que diz respeito à função endócrina dos mamíferos, esta inclui várias hormonas tais como a progesterona, estrogéneos, gonadotrofinas coriónicas, lactogénes placentárias (também designados por somatomotrofinas), prolactinas, hormonas e factores de crescimento, além de proteínas e glicoproteínas específicas ou associadas à gestação, as quais interferem com a gestação, a manutenção do corpo lúteo, a tolerância imunitária do embrião/feto pela mãe, o metabolismo materno intermédio, o crescimento fetal e o desenvolvimento da glândula mamária.

O estudo da função endócrina da placenta dos bovinos será discutida no presente trabalho. As proteínas associadas à gestação, bem como o seu relacionamento com outras hormonas peptídicas serão usadas como termos de comparação para compreensão da sua estrutura, função e produção das proteínas placentárias.

PLACENTA

A placenta desempenha um papel essencial no estabelecimento e manutenção da gravidez bem como no desenvolvimento fetal, funcionando como um órgão respiratório, nutricional, endócrino e imunológico. Contrariamente ao que se acreditou durante muitos anos, a placenta não representa somente uma barreira mãe/filho, possuindo efectivamente um papel activo e selectivo de trocas

entre a mãe e o feto, o qual evolui em harmonia com outros sistemas. A estrutura da placenta varia de acordo com as espécies, e dela depende o comportamento do embrião na altura da nidação, quer esta seja nos tecidos de lúmen uterino ou então apenas na mucosa uterina.

Apesar de algumas imperfeições, a classificação dos diferentes tipos de placentas baseada na estrutura histológica ou, mais precisamente no número de camadas histológicas que separam o feto do sangue materno parece-nos ser a mais correcta. Neste tipo de classificação, os diferentes tipos de placentas são divididos em quatro grupos: placentas epiteliocoriais (ex. equinos e suínos), placentas sindesmocoriais (ex. ruminantes), placentas endoteliocoriais (ex. carnívoros) e finalmente placentas hemocoriais (ex. primatas e roedores). O grau de ligação entre o epitélio uterino e a placenta é praticamente nulo nas placentas epiteliocoriais, sendo máximo nas placentas hemocoriais, onde o tecido uterino é modificado e rompido pelos tecidos da placenta, sendo este fenómeno responsável pelo sangramento que ocorre durante o parto. Quanto aos bovinos, a placenta situa-se entre dois tipos, não sendo completamente sindesmocorial nem epiteliocorial. Nesta espécie existe a presença de microvilosidades nas quais o epitélio uterino persiste mas é modificado num híbrido feto-materno formado pela migração e pela fusão das células binucleadas do corion fetal com as do epitélio uterino (Wooding, 1992).

Células binucleadas

O elemento mais característico da placenta dos ruminantes é a presença de células binucleadas no trofoblasto (Wimsatt, 1951). Estas células primordialmente descritas por Assheton em 1906, têm sido objecto de inúmeras investigações através das últimas cinco décadas (Drieux e Thiery, 1951; Amoroso, 1952; Wooding e Whathes, 1980; Klisch *et al.*, 1999). As células binucleadas derivam das células coriônicas mononucleadas por cariocinese sem subsequente citocinese. As células mais jovens são localizadas profundamente na trofoderme e a sua maturação é feita progressivamente quando do seu aparecimento na superfície materna (Wooding, 1983). As primeiras células binucleadas aparecem imediatamente antes da implantação (Wango *et al.*, 1990a), podendo ser reconhecidas a partir de 14 dias após a fertilização nos ovinos (Wooding, 1984) e a partir do dia 17-18 nos bovinos (Wathes e Wooding, 1980).

Após o desenvolvimento da placenta, as células binucleadas representam 15-20% do total da população celular placentária (Wooding, 1983; Wooding *et*

al., 1986; Wango *et al.*, 1990b) das quais cerca de uma em sete migram em direcção ao epitélio uterino, em qualquer altura de gestação (Wooding *et al.*, 1996). A migração das células binucleadas representa um papel importante na remodelação da estrutura da placenta, induzindo uma reacção com as células uterinas o que pode resultar na formação de células trinucleadas de vida curta em bovinos (Wooding e Beckers, 1987) ou na formação de extensas placas sinciciais em ovinos (Wooding, 1992).

No que diz respeito à sua função endócrina, na década de 40 suspeitou-se que a presença de células especiais da placenta dos ruminantes estaria relacionada com a produção de hormonas essenciais à manutenção da gestação. Nesta década foi provada pela primeira vez a redução da actividade gonadotrófica da pituitária na vaca gestante, sugerindo-se que o corpo lúteo fosse substituído por substâncias luteotróficas produzidas num outro órgão qualquer. Em 1952 e 1954, respectivamente Weeth e Herman e Björkman usando micro-secções de cotilédones corados com “periodic acid Schiff (PAS)”, descreveram a presença de numerosas células trofoblásticas contendo glicoproteínas. Cerca de 10 anos mais tarde, Foote e Kaushik (1963) demonstraram a presença de actividade LH nos cotilédones. Estes estudos foram pioneiros neste campo, abrindo o caminho para a futura identificação e caracterização de hormonas e proteínas sintetizadas pela placenta dos ruminantes.

Actualmente é bem conhecido que as células binucleadas estão directamente envolvidas na produção de progesterona (Wango *et al.*, 1991; Wango *et al.*, 1992; Wooding *et al.*, 1996), prostaglandinas (Reimers *et al.*, 1985b), hormonas placentárias lactogénicas (Verstegen *et al.*, 1985; Wooding *et al.*, 1992) e glicoproteínas específicas ou associadas à gestação (Reimers *et al.*, 1985a; Gogolin-Ewens *et al.*, 1986; Morgan *et al.*, 1989; Zoli *et al.*, 1992a; Atkinson *et al.*, 1993). Estes produtos antes de serem excretados são armazenados em grânulos densos, os quais ocupam mais de 50% do citoplasma (Lee *et al.*, 1986) e os quais libertam o seu conteúdo directamente no sistema materno após a migração das células binucleadas (Wooding, 1984).

PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS

As proteínas excretadas pela placenta, após o momento em que podem ser doseadas na circulação sanguínea materna, apresentam-se como um óptimo indicador de gestação bem como do estado sanitário da unidade feto-placentária. Contudo, apesar de muita investigação ter sido desenvolvida sobre as funções

fisiológicas destas proteínas placentárias, a exacta função da maior parte delas continua ainda desconhecida.

É sabido, por exemplo, que nas espécies ruminantes, o interferon tau permite a manutenção do corpo lúteo funcionando como um agente anti-luteolítico (Martal *et al.*, 1979), enquanto que nos primatas, esta manutenção é assegurada pela gonadotrofina coriónica (Aschheim, 1927). Além de factor anti-luteolítico, o interferon tau funciona ainda como um factor estimulante na síntese da progesterona. Para além destas acções, esta glicoproteína parece também exercer uma função importante, principalmente nas primeiras etapas da gestação, na tolerância imunitária do embrião/feto pela mãe (Fillion *et al.*, 1991; Martal *et al.*, 1997). Num estado mais avançado da gestação, a placenta produz a hormona lactogénio placentário, a qual é responsável pela estimulação da actividade mamária (Forsyth, 1986), estando também envolvida, pelo menos parcialmente, no crescimento fetal (Chene *et al.*, 1988) e no metabolismo materno (Freemark *et al.*, 1992).

Os maiores grupos das proteínas placentárias e os seus aspectos mais relevantes, são discutidos a seguir.

Proteínas associadas à gestação (PAGs)

As PAGs, conhecidas com uma enorme variedade de nomes os quais incluem “Pregnancy-Specific Protein B” (PSPB) (Butler *et al.*, 1982; Lynch *et al.*, 1992) e “Pregnancy-Specific Protein 60” (Camous *et al.*, 1988; Mialon *et al.*, 1993) foram primeiramente descritas como antigénios placentários da placenta de bovinos, os quais estavam presentes no soro sanguíneo da mãe a partir do primeiro mês de gestação. Nos últimos 20 anos, Butler, Beckers, Zoli e Xie e colaboradores (Butler *et al.* 1982; Beckers *et al.*, 1988b; Zoli *et al.*, 1991; Xie *et al.*, 1991) identificaram uma longa variedade desta família de glicoproteínas produzidas especificamente pela camada celular externa da placenta das espécies unguladas (Zoli *et al.*, 1992a; Green *et al.*, 2000).

Usando procedimentos bioquímicos, algumas moléculas da família das PAGs foram isoladas a partir de cotilédones de vaca (Zoli *et al.*, 1991), da ovelha (Zoli *et al.*, 1995, Xie *et al.*, 1997a) e da cabra (Garbayo *et al.*, 1998). Após terem sido isoladas, estas moléculas foram usadas para imunizar coelhos e o anti-soro obtido permitiu o desenvolvimento de ensaios radio-imunológicos para a detecção de PAG no soro sanguíneo das diferentes espécies (Zoli *et al.*, 1992b; Ranilla *et al.*, 1994; Gonzalez *et al.*, 1999).

O doseamento das concentrações de PAG representa actualmente um óptimo método de diagnóstico de gestação bem como de estudo da função do trofoblasto, podendo ajudar no maneio da reprodução bem como nos aspectos clínicos e de investigação para determinar diferentes aspectos patológicos que possam afectar a gestação (Zarrouk *et al.*, 1999a,b).

Família das PAGs bovinas (boPAGs)

a) A boPAG-1

Após terem sido isoladas por Zoli e colaboradores em 1991, e após a primeira caracterização por Xie e colaboradores em 1991, diferentes moléculas da família das PAGs foram identificadas e denominadas dum modo arbitrário até à presente data.

A boPAG purificada por Zoli *et al.* em 1991 e que posteriormente passou e designar-se de boPAG-1 (Xie *et al.*, 1995) demonstrou ser uma proteína ácida com um peso molecular de 67 000, existindo quatro isoformas (I, II, III e IV) com diferentes pontos isoeléctricos (4,4; 4,6; 5,2 e 5,4). O ponto isoeléctrico está directamente relacionado com a quantidade de ácido siálico existente em cada isoforma (2,12%, 0,83%, 0,64% e 0,29%, respectivamente). Estudos imunoquímicos permitiram detectar a boPAG-1 predominantemente no citoplasma de células binucleadas presentes nos tecidos dos cotilédones (Zoli *et al.*, 1992a). A presença de antigénios imunologicamente idênticos à boPAG-1 foram também encontrados em extractos de ovários e testículos (Zoli *et al.*, 1990), o que justifica o adjectivo “associadas” e não “específicas” que são dadas a esta glicoproteína.

O facto mais surpreendente da boPAG-1 após a sua purificação foi a descoberta de que esta proteína pertence à uma família de enzimas proteolíticas, as quais são conhecidas como proteinases aspárticas, possuindo uma grande identidade em aminoácidos com as sequências da pepsina, da quimosina, da catepsina D e E, da renina, da napsina e da memapsina. Contudo, apesar de sua similaridade estrutural com outras proteinases aspárticas (Guruprasad *et al.*, 1996; Xie *et al.*, 1997b), esta molécula é considerada como cataliticamente inactiva. Xie e colaboradores (1991) demonstraram que a falta aparente da actividade proteolítica da boPAG-1 é devida à presença de alanina (Ala-76) no local onde normalmente existe glicina (Gly-76). Esta mutação tem como consequência uma mudança do local da molécula catalítica da água da sua posição simétrica normal, originando a inactividade catalítica desta proteína (Davies, 1990).

b) A boPAG-2

Em 1994, Xie e colaboradores identificaram uma proteína coriónica

anteriormente isolada por Beckers e a sua equipa (1988a) como sendo um novo membro da família das proteinases aspárticas, à qual foi dado o nome de boPAG-2 (Beckers *et al.*, 1994). Esta glicoproteína foi caracterizada como sendo um polipéptido de 372 aminoácidos estruturalmente semelhante à boPAG-1, à ovPAG-1 e à pepsina (com uma sequência de 58%, 58% e 51% dos aminoácidos idênticos, respectivamente).

O ADN complementar da boPAG-2 é detectado a partir dos 17 dias de gestação, coincidindo com o início da implantação. Contudo, contrariamente ao que acontece com a boPAG-1, a boPAG-2 ainda não foi purificada até à homogeneidade, não podendo ser usada para o desenvolvimento de doseamentos rádio-imunológicos que permitam a sua detecção na circulação sanguínea materna.

Contrariamente ao que acontece com a boPAG-1, a boPAG-2 tem um centro catalítico com uma sequência de aminoácidos idêntica a outras proteinases aspárticas activas. Uma possível actividade proteolítica da boPAG-2 continua, contudo, ainda por esclarecer.

c) Outras boPAGs

Até ao presente, como resultado do uso de técnicas de biologia molecular, foram identificados 21 ADNs codificantes para diferentes PAGs na espécie bovina (Xie *et al.*, 1991; Xie *et al.*, 1994; Xie *et al.*, 1997b; Green *et al.*, 2000). Estas moléculas diferem em ao menos 5% em sua sequência de nucleotídeos, sendo expressas em células mononucleadas, binucleadas ou mesmo em ambas. À excepção das boPAGs -1 e -2, ainda não foi possível isolar a maioria destas proteínas a partir de placentas, não sendo as mesmas identificáveis na circulação periférica sanguínea.

Ensaio radio-imunológico para dosear a boPAG-1

a) Doseamento de PAG durante a gestação normal

Na prática, o anti-soro produzido em coelhos contra a boPAG-1, PSPB ou PSP-60 tem permitido o desenvolvimento de ensaios radio-imunológicos específicos para dosear estas proteínas no sangue de vacas (Sasser *et al.*, 1986; Humblot *et al.*, 1988ab; Sasser *et al.*, 1989; Zoli *et al.*, 1992b; Mialon *et al.*, 1993; Skinner *et al.*, 1996). Uma vez que as concentrações de PAG são mais elevadas no soro da mãe que no do feto (Zoli *et al.*, 1992b), pode concluir-se que esta glicoproteína é libertada preferencialmente no sistema materno em detrimento do do feto.

Na circulação materna, a PAG pode ser detectada ao mesmo tempo que o trofoblasto estabelece ligações definitivas com as paredes do útero. Desde o início da gestação até uma semana antes do parto, as concentrações aumentam devagar e gradualmente (Fig. 1). Durante o período do parto as concentrações aumentam rapidamente atingindo valores de 1 à 5 µg/ml alguns dias antes do parto (Zoli *et al.*, 1992b; Patel *et al.*, 1997) (Fig. 1). As concentrações baixam após o parto, atingindo níveis basais, indetectáveis cerca de 100 dias pós-parto (Zoli *et al.*, 1992b). O relativo longo tempo necessitado pela boPAG-1 para desaparecer da circulação sanguínea materna pode ser explicada pela elevada concentração presente no sangue materno na altura do parto, bem como a longa vida-média desta glicoproteína a qual está estimada em 7,4 a 9 dias (Kiracofe *et al.*, 1993; Ali *et al.*, 1997). Investigações realizadas durante o periparto demonstraram ainda a influência do ambiente maternal e do genótipo fetal (sexo e raça) nas concentrações periféricas de boPAG-1. De facto, as concentrações de PAG são mais elevadas na circulação materna em cruzamentos de raças que em raças puras (Guibault *et al.*, 1991).

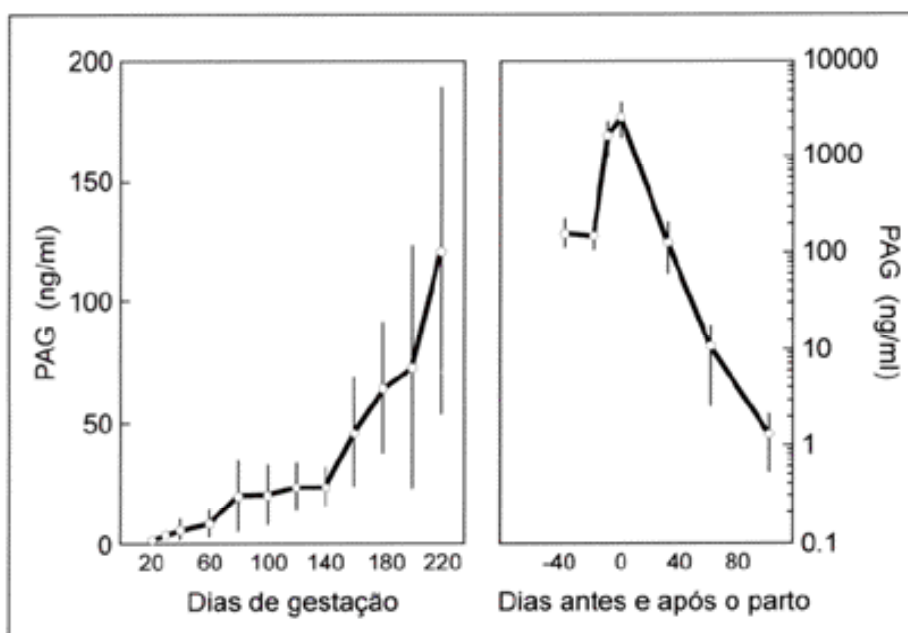


Figura 1. Perfil das concentrações de PAG (média \pm desvio padrão) calculados no soro de 20 vacas colectadas do dia 20 de gestação ao dia 100 pós-parto. A remacar a escala aritmética das concentrações de PAG do dia 20 ao dia 220 de gestação e a escala logarítmica do dia -40 antes do parto ao dia 80 pós-parto. Adaptado de Zoli *et al.*, 1992b.

A detecção da PAG em amostras de soro ou de plasma é correntemente usada como método para diagnósticos de gestação em bovinos a partir dos 29-30 dias após a fecundação (Sasser *et al.*, 1986; Humblot *et al.*, 1988a; Szenci *et al.*, 1998a,b, 2000a,b). Os valores considerados como positivos para o doseamento de PAG para fins de diagnóstico de gestação variam de 72% (dia 29 após inseminação artificial; Szenci *et al.*, 1998b) a 93% (dia 45 após inseminação artificial; Zoli *et al.*, 1992b), enquanto que os valores considerados como negativos variam de 95% a 100% (respectivamente aos dias 29 e 45 após inseminação artificial; Szenci *et al.*, 1998b).

b) Doseamento de PAG durante gestações anormais

Em 1999 Horta demonstrou existir um maior crescimento do feto durante a gestação, quando os vitelos resultam a partir de embriões produzidos *in vitro*. Além do aumento do peso alguns bezerros podem apresentar anomalias morfológicas tais como edemas do cordão umbilical com hipertrofia da placenta, as quais são responsáveis por elevadas concentrações de boPAG-1 na circulação materna. Em alguns casos, estas concentrações podem atingir entre 9 µg a 12,35 µg/ml (Ectors *et al.*, 1996b). Consequentemente, concentrações anormalmente elevadas de boPAG-1 na circulação materna podem ser um importante indício da presença de quantidades anormais de tecidos do trofoblasto.

No caso contrário, a observação de um acentuado decréscimo nas concentrações de boPAG-1 após monta natural, inseminação artificial, fecundação *in vitro* ou clonagem um forte indicador de disfunção placentária ou sofrimento fetal. Num estudo pioneiro, o doseamento de concentrações de boPAG-1 em amostras colectadas semanalmente após transferência de embriões produzidos *in vitro* permitiu a detecção de mortes embrionárias e fetais na espécie bovina (Ectors *et al.*, 1996a). O mesmo fenómeno de redução nas concentrações de PAG em caso de abortos de origem infecciosa e não infecciosa foi descrito por Zarrouk *et al.* (1999a,b) em cabras de origem norueguesa. Contudo, dadas as elevadas variações nas concentrações da PAG no sangue materno, somente uma acentuado decréscimo ou desaparecimento total da PAG pode ser um sinal efectivo da morte embrionária ou fetal no caso de gestações múltiplas e simples, respectivamente.

Foi demonstrada ainda que a utilização paralela da ultrasonografia (US) e do doseamento de hormonas como a progesterona (P4) e a boPAG-1 pode revelar a ocorrência de diversos problemas frequentemente observados em condições de campo, tais como a re-inseminação de fêmeas já grávidas ou a

administração de prostaglandina F2a no início de uma gestação viável causando a morte do embrião ou do feto. Em ambos os casos, os quais se traduzem em erros no manejo da reprodução, a identificação de mortalidade embrionária ou fetal passaria despercebida sem o uso destas técnicas, sendo considerada simplesmente como um retorno tardio em cio.

Szenci e colaboradores (1998a) descreveram diversas situações nas quais o doseamento de proteínas associadas à gestação e progesterona demonstraram ser extremamente úteis quando associadas a técnica de US. Neste estudo, merecem ser citados particularmente o caso da vaca nº 3129 (Fig. 2), na qual as concentrações de PAG diminuem enquanto que as concentrações de progesterona permanecem elevadas mesmo após a ocorrência de mortalidade embrionária devido à persistência do corpo lúteo; a vaca nº 3369, na qual as concentrações de PAG mostram claramente que a vaca tinha sido fecundada quando da primeira inseminação e que a realização de uma segunda inseminação 21 dias mais tarde provocou provavelmente uma contaminação do útero, resultando em mortalidade embrionária; a vaca nº 3570, na qual o doseamento de PAG confirma a ocorrência de mortalidade embrionária precoce indicada pela US, e por fim, o caso da vaca nº 3004, na qual as concentrações de PAG demonstram que esta vaca teria sido inseminada num curto período após o parto (concentrações decrescentes de PAG), e que neste caso, provavelmente o ambiente uterino não estaria preparado para o estabelecimento de uma nova gestação.

Lactogénios placentários

Os lactogénios placentários, também conhecidas por somatomamotrofinas coriônicas, são hormonas proteínicas de origem placentária com uma parte estrutural e funcional idênticas às hormonas de crescimento e à prolactina.

A função das hormonas lactogénicas placentárias varia de acordo com as diferentes espécies. Em geral foi sugerido que estas hormonas influenciam o desenvolvimento da glândula mamária e a lactogénese (Forsyth, 1986; Buttle *et al.*, 1972), as esteroidogénese ovariana (Glaser *et al.*, 1984; Telleria *et al.*, 1998) e placentária (Deayton *et al.*, 1993), o crescimento fetal (Chene *et al.*, 1988), alterando ainda o metabolismo materno para acomodar o feto, contribuindo para o seu crescimento e desenvolvimento (Freemark *et al.*, 1992).

Lactogénio placentário bovino ou somatomamotrofina coniónica bovina (bCS)

Estudos efectuados em hormonas placentárias precederam os estudos

feitos sobre as PAGs nos ruminantes domésticos. Na espécie bovina, a actividade lactogénica dos cotilédones foi primeiramente demonstrada por Buttle e Forsyth (1976). Este estudo pioneiro foi efectuado recorrendo ao uso de uma co-cultura de células do tecido mamário de rata e de tecido cotiledonar de vaca em diferentes estágios de gestação, durante um período de 5 dias. Com este trabalho, foi obtida uma substância lactogénica com actividade equivalente à cerca de 300 ng da actividade da prolactina bovina. Purificações realizadas ao mesmo tempo a partir do uso de placentas bovinas por várias equipas de investigação (Bolander e Fellows, 1976; Beckers *et al.*, 1980; Murthy *et al.*, 1982) permitiram a identificação de uma proteína com actividade somatomotrófica, denominada mais tarde de hormona lactogénio placentário (bPL) ou somatomotrofina coniónica bovina (bCS).

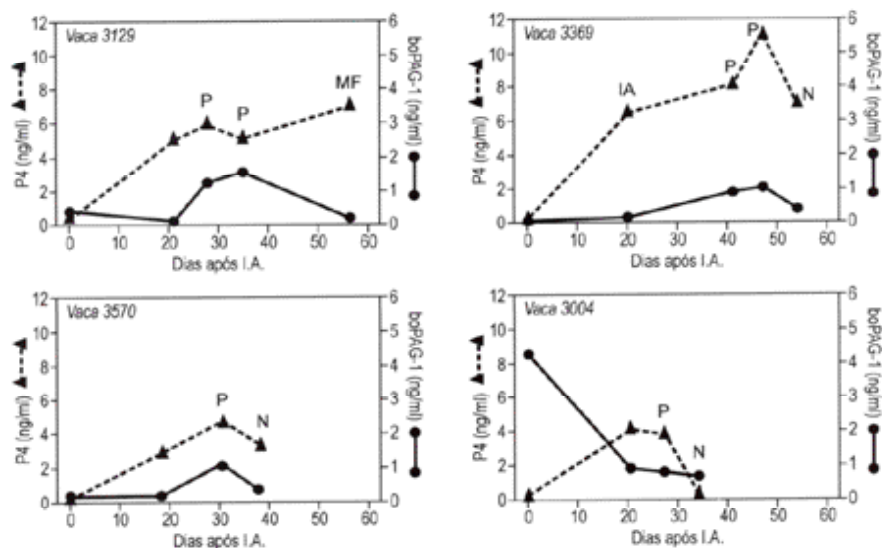


Figura 2. Concentrações plasmáticas de boPAG-1 (—▲—▲—) e progesterona (—Δ—Δ—) em 4 vacas nas quais o diagnóstico de gestação inicialmente positivo (P) por ultrasonografia foi seguido de um diagnóstico negativo (N) por ultrasonografia ou pela observação directa da morte fetal (MF). A vaca nº 3369 foi re-inseminada (I.A.) no 20º dia após a primeira inseminação. Adaptado de Szenci *et al.*, 1998a.

A bPL é produzida pelas células coriônicas binucleadas (Verstegen *et al.*, 1985; Kapes *et al.*, 1992), as quais libertam os seus produtos para a circulação

materna após sua migração e fusão com células do epitélio do endométrio (Beckers, 1983). Em contraste com outros lactogéneos placentários, a PL bovina é uma glicoproteína que contém n-ligandos e o-ligandos oligosacarídeos (Shimomura e Bremel, 1988; Byatt *et al.*, 1987). Esta composição glicoproteica, característica também de outras proteínas placentárias tais como a boPAG pode resultar dum mecanismo *post* translacional altamente desenvolvido o qual foi identificado existir nas células gigantes do trofoblasto de bovinos (Gogolin-Ewens *et al.*, 1986).

A PL bovina é detectada na circulação materna a partir do quarto mês de gestação (Beckers, 1983) mas a sua concentração permanece inferior a 2 ng/ml durante a gestação (Fig. 3). Na circulação periférica do feto a concentração de bPL é mais elevada (5-25 ng/ml) apresentando um declínio com o avanço da gestação (Beckers *et al.*, 1982; Byatt *et al.*, 1987). Estas concentrações fetais vs maternas de bPL são bastante diferentes das observadas para a boPAG-1, apesar da co-localização de ambas as proteínas placentárias nas mesmas células.

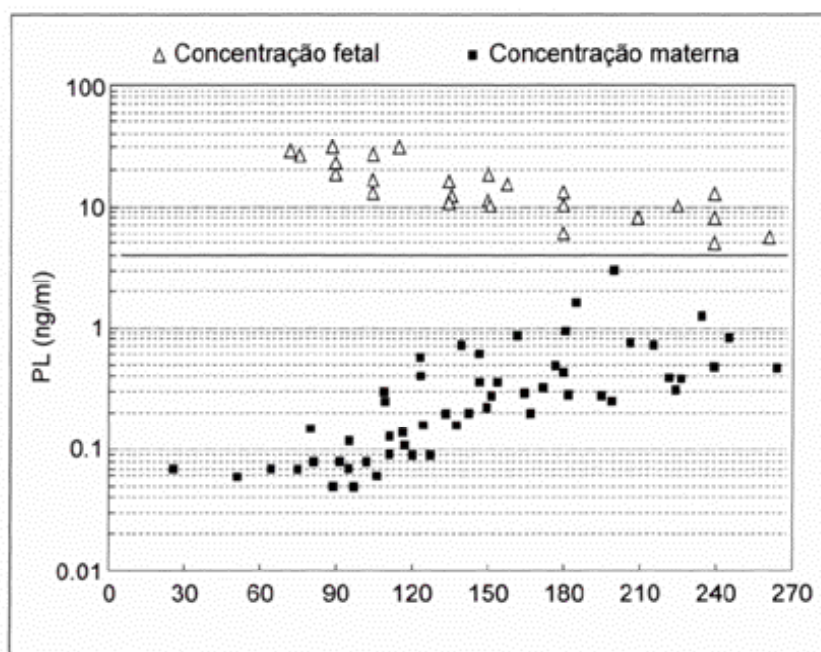


Figura 3. Perfil das concentrações plasmáticas da hormona lactogénea placentar bovina doseada em vacas e em fetos. Adaptado de Beckers *et al.*, 1982.

Nos bovinos o crescimento da glândula mamária parece ser, pelo menos parcialmente controlada por hormonas de origem placentária, tais como a bPL. O

crescimento do bezerro e o peso da placenta estão positivamente relacionados com a produção de leite na lactação seguinte (Erb *et al.*, 1980; Collier *et al.*, 1982).

Proteínas associadas ao sinal embrionário

Em algumas espécies, mesmo antes da implantação, o embrião produz alguns “sinais” os quais são reconhecidos pela mãe inibindo a luteólise e induzindo a transformação do corpo lúteo cíclico num corpo lúteo gravídico. Dentro destes sinais, pode ser referida a gonadotrofina coriônica (GC), um factor luteotrófico produzido pelas placentas dos humanos e dos equinos, e o interferon tau, bem como o factor anti-luteolítico responsável pela permanência do corpo lúteo nas espécies ruminantes.

Gonadotrofina coriônica (GC)

As espécies humana e equina são conhecidas, desde há muito tempo, como produtoras, ao nível placentário, de hormonas gonadotróficas. Já em 1927, Aschheim relatou a presença dum factor gonadotrófico na urina da mulher grávida, baseando neste facto o seu famoso método de detecção de gravidez (Aschheim e Zondek, 1928a,b). Dadas as suas propriedades, este factor gonadotrófico foi mais tarde chamado de gonadotrofina coriônica humana (hCG). Dois anos mais tarde, Cole e Hart (1930) demonstraram existir actividade gonadotrófica no soro de éguas gestantes. Esta gonadotrofina, vulgarmente conhecida por PMSG, após uma melhor caracterização passou a ser denominada de gonadotrofina coriônica equina (eCG).

Uma substância possuidora de uma actividade do tipo LH foi isolada pela primeira vez a partir de extractos de cotilédones fetais bovinos por Foote et Kaushik (1963). A partir deste trabalho, numerosas equipas (Ailenberg and Shemesh, 1983; Beckers *et al.*, 1988a) tentaram purificar e caracterizar um equivalente da gonadototrofina coriônica na espécie bovina. Em especial, foi parcialmente purificada uma substância com grande actividade LH, e a qual não apresentou reacções cruzadas com anti-soro anti-LH bovino (Beckers *et al.*, 1988a). Entretanto, apesar das numerosas tentativas feitas durante várias décadas, não foi possível isolar e caracterizar (sequência de aminoácidos) a molécula teoricamente responsável pela actividade gonadotrófica observada na placenta de fêmeas bovinas.

A questão da existência ou não de uma substância gonadotrófica na placenta de bovinos foi parcialmente elucidada apenas em 1994 por Xie e colaboradores, os quais demonstraram que o ADN complementar correspondente

à “gonadotrofina coriónica” isolada em bovinos por Beckers e colaboradores (1988a) correspondia, na verdade, a uma nova forma de protease aspártica pertencente a família das PAGs (boPAG-2). Uma outra resposta a esta questão foi dada por Nilson e colaboradores (1991), os quais mostraram que a expressão de genes codantes da sub-unidade alfa, essencial à atividade luteotrópica do LH e das GCs, seria possível no tecido hipofisário de todas as espécies de mamíferos, mas restrito às placentas de equinos e primatas. Com base em ambos argumentos, pode ser deduzido que actividade coriónica previamente detectada em extractos placentários de bovinos pelo uso de doseamentos baseadas em radio-receptores (LH) seria devida a uma activação não-específica de receptores LH, e não à existência de gonadotrofinas coriónicas nesta espécie.

Interferon tau

Nos ruminantes domésticos, a produção ovárica de progesterona é requerida durante cerca de 55 dias nas ovelhas sendo este período pelo menos 165-180 dias nos bovinos (Estergreen *et al.*, 1967). Nos caprinos a progesterona ovárica é produzida até ao final da gestação. Nestas espécies, a transformação do corpo lúteo cíclico em gravídico parece ser induzida pela acção de um factor proteico produzido pelo concepto próximo à sua implantação. Este factor a que primeiramente se denominou trofoblastina (Martal *et al.*, 1979) ou proteína trofoblástica (Godkin *et al.*, 1984) foi posteriormente designado como uma subclasse distinta da família do interferon alfa ao qual se designou interferon tau (Charpigny *et al.*, 1988).

Os primeiros estudos que demonstraram a presença dum factor anti-luteolítico produzido pelo concepto de ruminantes foram realizados por Moor e Rowson (1966), os quais transferiram embriões de ovino com 14-16 dias a fêmeas não-gestantes antes do 12º dia do ciclo sexual, observando a manutenção do corpo lúteo e a interrupção do ciclo sexual. No ano seguinte, os mesmos autores homogeneizaram embriões de ovinos com 14-16 dias e injectaram o homogeneizado no útero antes do 12º dia do ciclo sexual, obtendo-se resultados idênticos: a manutenção do corpo lúteo e a interrupção do ciclo sexual. Este fenómeno não foi contudo observado quando os embriões usados tinham entre 21-23 dias de idade.

Northey e French (1980) bem como Humblot e Dalla Porta (1984) fizeram experiências idênticas na vaca. Transferiram embriões entre 15-17 dias de idade ou os seus homogeneizados para recipientes durante os primeiros 16 dias do ciclo sexual obtendo a manutenção do corpo lúteo.

O interferon tau é o principal produto excretado pelo concepto bovino entre os dias 16 e 25 pós-fecundação, alterando a libertação uterina de $\text{PGF}_{2\alpha}$, o que resulta na manutenção do corpo lúteo responsável pela síntese de progesterona no início da gestação. O mecanismo de acção do interferon tau inclui a inibição dos receptores para estradiol com uma consequente redução dos receptores para oxitocina, a activação do inibidor da ciclo-oxigenase e o favorecimento da síntese de PGE em detrimento da síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Hansen *et al.*, 1999). Apesar de ser um importante produto de secreção, esta molécula é libertada localmente no lúmen uterino, não podendo ser detectada na circulação periférica materna.

Factor precoce de gestação (EPF)

O factor precoce de gestação foi primeiramente descoberto nos primeiros estágios de gestação por Morton e colaboradores em 1974. Colocado em evidência pelo teste de inibição da roseta, o EPF foi considerado como sendo um importante factor immunosupressor responsável pela tolerância imunológica do concepto pelo sistema imunológico materno. Recentemente Cavagnagh e Morton (1994) caracterizaram o EPF como sendo na verdade uma chaperonina 10, a qual poderia ser a molécula responsável pela inibição da formação de rosetas, e por consequência, possuidora de uma forte acção imuno-supressora local (Morton *et al.*, 1992; Morton, 1998). Apesar da precocidade atribuída ao aparecimento do EPF, a utilização do teste de inibição da roseta para fins de diagnóstico de gestação em diversas espécies não tem sido considerada como fiável (Chaouat e Menu, 1993).

AGRADECIMENTOS

Este trabalho representa parte de estudos financiados pela FNRS e IRSIA belgas (J.F. Beckers). A fundação Luso-Americana para o desenvolvimento (Projecto 858/2000) financiam parcialmente os trabalhos de F. Moreira da Silva (Portugal) desenvolvidos neste domínio. A autora N.M. Sousa é financiada pela CAPES brasileira.

REFERÊNCIAS

- AILENBERG, M. e SHEMESH, M., 1983. Partial purification of a chorionic gonadotropin-like protein from bovine cotyledons. *Biol. Reprod.*, 28: 517-522.
- ALI, M., GEBBIE, F.E., SINCLAIR, K.D., HUTCHINSON, J.S.M., BECKERS, J.F. e BROADBENT, P.J., 1997. Half-life of serum bovine pregnancy-associated glycoprotein (bPAG), postpartum anoestrus and

- performance of beef cows. *J. Reprod. Fert.*, 20: 25 (abstract).
- AMOROSO, E.C., 1952. Placentation. In: A.H. Marshall (editor). *Physiology of Reproduction*, A.S. Parkes Ed., London, pp. 127-311.
- ANTHONY, R.V., PRATT, S.L., LIANG, R. e HOLLAND, M.D., 1995. Placental-fetal hormonal interactions: impact on fetal growth. *J. Anim. Sci.*, 73: 1861-1871.
- ASCHHEIM, S., 1927. Weitere Untersuchungen ueber Hormone and Schwangerschaft. Das Vorkommen der Hormone in Harn der Schwangeren. *Arch. Gynaekol.*, 132: 179-183.
- ASCHHEIM, S. e ZONDEK, B., 1928a. Schangerschaftsdiagnose aus dem Harn (durch Hormonnachweis). *Klin. Wschr.*, 7: 8-9.
- ASCHHEIM, S. e ZONDEK, B., 1928b. Die Schwangerschaftsdiagnose au dem Harn durch nachweis des hypophysenvorder lappenhormones. *Klin. Wschr.*, 7: 1404-1411.
- ASSHETON, R., 1906. The morphology of the ungulate placenta. Particularly the development of that organ in sheep, and notes upon the placenta of the elephant and hyrax. *Phil. Thans. R. Soc.*, 198: 143-220.
- ATKINSON, Y.H., GOGOLIN-EWENS, K.J., HOUNSEL, E.F., DAVIES, M.J., BRANDON, M.R. e SEAMARK, R.F., 1993. Characterization of placentation-specific binucleate cell glycoproteins possessing a novel carbohydrate. *J. Biol. Chem.*, 268: 26679-26685.
- BECKERS, J.F., 1983. L'hormone placentaire somatomotrope bovine. Thèse d'agrégation, Université de Liège, 207 pp.
- BECKERS, J.F., FROMONT-LIENARD, CH., VAN DER ZWALMEN, P., WOUTERS-BALLMAN, P. e ECTORS, F., 1980. Isolement d'une hormone placentaire bovine présentant une activité analogue à la prolactine et à l'hormone de croissance. *Ann. Méd. Vét.*, 124: 584-601.
- BECKERS, J.F., DE COSTER, R., WOUTERS-BALLMAN, P., FROMONT-LIÉNARD, CH., VAN DER ZWALMEN, P. e ECTORS, F., 1982. Dosage radioimmunologique de l'hormone placentaire somatotrope et mammotrope bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 126: 9-21.
- BECKERS, J.F., DEWULF, M., VERSTEGEN, J., WOUTERS-BALLMAN, P. e ECTORS, F., 1988a. Isolation of a bovine chorionic gonadotrophin (bCG). *Theriogenology*, 29: 218 (abstract).
- BECKERS, J.F., WOUTERS-BALLMAN, P. e ECTORS, F., 1988b. Isolation and radioimmunoassay of a bovine pregnancy specific protein. *Theriogenology*, 29: 219 (abstract).
- BECKERS, J.F., ROBERTS, R.M., ZOLI, A.P., ECTORS, F. e DERIVAUX, J., 1994. Molecules of the family of aspartic proteinases in the placenta of ruminants: hormones or proteins ? *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.*, 149: 355-367.
- BJÖRKMAN, N., 1954. Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. *Acta Anat.* 22 (Suppl. 2): 1-31.
- BOLANDER, F.F.JR. e FELLOWS, R.E., 1976. Purification and characterization of bovine placental lactogen. *J. Biol. Chem.*, 251: 2703-2708.

- BUTLER, J.E., HAMILTON, W.C., SASSER, R.G., RUDER, C.A., HASS, G.M. e WILLIAMS, R.J., 1982. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol. Reprod.*, 26: 925-933.
- BUTTLE, H.L. e FORSYTH, I.A., 1976. Placental lactogen in the cow. *J. Endocrin.*, 68: 141-146.
- BUTTLE, H.L., FORSYTH, I.A. e KNAGGS, G.S., 1972. Plasma prolactin measured by radioimmunoassay and bioassay in pregnant and lactating goats and the occurrence of a placental lactogen. *J. Endocr.*, 53: 483-491.
- BYATT, J.C., WALLACE, C.R., BREMEL, R.D., COLLIER, R.J. e BOLT, D.J., 1987. The concentration of bovine placental lactogen and the incidence of different forms in fetal cotyledons and in fetal serum. *Anim. Endocrinol.*, 4: 231-241.
- CAMOUS, S., CHARPIGNY, G., GUILLOMOT, M. e MARTAL, J., 1988. Purification of one pregnancy-specific protein by high-performance liquid chromatography (HPLC). In: *Proceedings of Bard Workshop. Maternal Recognition of Pregnancy and Maintenance of the Corpus Luteum*, 20-24 March, Jerusalem, 1: 2 (abstract).
- CAVANAGH, A.C. e MORTON, H., 1994. The purification of early-pregnancy factor to homogeneity from human platelets and identification as chaperonin 10. *Eur. J. Biochem.*, 222: 551-560.
- CHAOUAT, G. e MENU, E., 1993. Immunology of pregnancy. In: Thibault, C., Lévassieur, M.C. e Hunter, R.H.F. (Editors), *Reproduction in mammals and man*, Ed. Lévassieur, Paris, pp. 435-459.
- CHARPIGNY, G., REINAUD, P., HUET, J.C., GUILLOMOT, M., CHARLIER, M., PERNOLLET, J.C. e MARTAL, J., 1988. High homology between a trophoblastic protein (trophoblastin) isolated from ovine embryo and alpha-interferons. *FEBS Lett.*, 228: 12-16.
- CHENE, N., MARTAL, J. e CHARRIER, J., 1988. Ovine chorionic somatomammotropin and fetal growth. *Reprod. Nutr. Dev.*, 28: 1707-1729.
- COLE, H.H. e HART, G.H., 1930. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Am. J. Physiology*, 93: 57-68.
- COLLIER, R.J., DOELGER, S.G., HEAD, H., THATCHER, W.W. e WILCOX, C.J., 1982. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield. *J. Anim. Sci.*, 54: 309-319.
- DAVIES, D.R., 1990. The structure and function of the aspartic proteinases. *Annu. Rev. Biophys. Chem.*, 19: 189-215.
- DEAYTON, J.M., YOUNG, I.R. e THORBURN, G.D., 1993. Early hypophysectomy of sheep fetuses: effects on growth, placental steroidogenesis and prostaglandin production. *J. Reprod. Fertil.*, 97: 513-520.
- DRIEUX, H. e THIERY, M., 1951. La placentation chez les mammifères domestiques. III. Placenta des bovidés. *Rec. Méd. Vét.*, 127: 5-25.
- ECTORS, F.J., DRION, P.V., DELVAL, A., SMITH, L.C., SULON, J., ZAAJER, D., SZENCI, O., REMY, B., BECKERS,

- J.F. e ECTORS, F., 1996a. Interests of pregnancy follow-up in cows after embryo transfer: special focusing on IVP and NT, 12^{ème} Colloque Association Européenne de Transfert Embryonnaire (Lyon), pp. 95-103.
- ECTORS, F.J., SCHMIDT, M., SMITH, L.C., SULON, J., DELVAL, A., REMY, B., AVERY, B. e BECKERS, J.F., 1996b. bPAG profiles in recipient heifers after transfer of IVF and nuclear transfer embryos. *Theriogenology*, 45: 283 (abstract).
- ERB, R.E., CHEW, B.P., MALVEN, P.V., D'AMICO, M.F., ZAMET, C.N. e COLENBRANDER, V.F., 1980. Variables associated with peripartum traits in dairy cows. VII. Hormones, calf traits peripartum traits and subsequent milk yield. *J. Anim. Sci.*, 51: 143-152.
- ESTERGREEN, V.L.JR., FROST, O.L., GOMES, W.R., ERB, R.E. e BULLARD, J.F., 1967. Effect of ovariectomy on pregnancy maintenance and parturition in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 50: 1293-1295.
- FILLION, C., CHAOUAT, G., REINAUD, P., CHARPIGNY, J.C. e MARTAL, J., 1991. Immunoregulatory effects of ovine trophoblastin protein (oTP): all five isoforms suppress PHA-induced lymphocyte proliferation. *J. Reprod. Immunol.*, 19: 237-49
- FOOTE, W.C. e KAUSHIK, D.K., 1963. LH activity in bovine reproductive tissue. *J. Anim. Sci.*, 22: 857-858.
- FORSYTH, I.A., 1986. Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function: the roles of prolactin, growth hormone, and placental lactogen. *J. Dairy Sci.*, 69: 886-903.
- FREEMARK, M., KEEN, A., FOWLERS, J., MULARONI, T., COMER, M., GRANDIS, A. e KODACK, L., 1992. The placental lactogen receptor in maternal and fetal sheep liver: regulation by glucose and role in the pathogenesis of fasting during pregnancy. *Endocrinology*, 130: 1063-1070.
- GARBAYO, J.M., REMY, B., ALABART, J.L., FOLCH, J., WATTIEZ, R., FALMAGNE, P. e BECKERS, J.F., 1998. Isolation and partial characterization of a pregnancy-associated glycoprotein family from the goat placenta. *Biol. Reprod.*, 58: 109-115.
- GLASER, L.A., KELLY, P.A. e GIBORI, G., 1984. Differential action and secretion of rat placental lactogens. *Endocrinology*, 115: 969-976.
- GODKIN, J.D., BAZER, F.W. e ROBERTS, M.R., 1984. Ovine trophoblast protein 1, an early secreted blastocyst protein, binds specifically to uterine endometrium and affects protein synthesis. *Endocrinology*, 114: 120-130.
- GOGOLIN-EWENS, K.J., LEE, C.S., MERCER, W.R., MOSEBY, A.M. e BRANDON, M.R., 1986. Characterization of a sheep trophoblast-derived antigen first appearing at implantation. *Placenta*, 7: 243-255.
- GONZÁLEZ, F., SULON, J., GARBAYO, J.M., BATISTA, M., CABRERA, F., CALERO, P., GRACIA, A. e BECKERS, J.F., 1999. Early pregnancy diagnosis in goats by determination of pregnancy-associated glycoprotein concentrations in plasma samples. *Theriogenology*, 52: 717-725.

- GREEN, J.A., XIE, S., QUAN, X., BAO, B., GAN, X., MATHIALAGAN, N., BECKERS, J.F. e ROBERTS, R.M., 2000. Pregnancy-associated glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biol. Reprod.*, 62: 1624-1631.
- GUILBAULT, L.A., BECKERS, J.F., LAPIERRE, S., ZOLI, A.P., BENITEZ-ORTIZ, W. e ROY, G.L., 1991. Peripartum concentrations of placental protein hormones (hPL and bPAG) in holstein and hereford recipients carrying purebred holstein fetuses. *Theriogenology*, 35: 208 (abstract).
- GURUPRASAD, K., BLUNDELL, T.L., XIE, S., GREEN, J.A., SZAFRANSKA, B., NAGEL, R.J., McDOWELL, K., BAKER, C.B. e ROBERTS, R.M., 1996. Comparative modeling and analysis of amino acid substitutions suggests that the family of pregnancy-associated glycoproteins include both active and inactive aspartic proteinases. *Protein Engineer.*, 9: 849-856.
- HANSEN, T.R., AUSTIN, K.J., PERRY, D.J., PRU, J.K., TEIXEIRA, M.G. e JOHNSON, G.A., 1999. Mechanism of action of interferon-tau in the uterus during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, 54: 329-339.
- HORTA, A. E. M. 1999. Síndrome de vitelos grandes associado à transferência de embriões produzidos *in vitro*. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, 6 – 1: 27 - 41.
- HUMBLLOT, P. e DALLA PORTA, M.A., 1984. Effect of conceptus removal and intrauterine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. *Reprod. Nutr. Dev.*, 24: 529-541.
- HUMBLLOT, P., CAMOUS, S., MARTAL, J., CHARLERY, J., JEANGUYOT, N., THIBIER, M. e SASSER, R.G., 1988a. Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy-specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology*, 30: 257-268.
- HUMBLLOT, P., CAMOUS, S., MARTAL, J., CHARLERY, J., JEANGUYOT, N., THIBIER, M. e SASSER, R.G., 1988b. Pregnancy specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*, 83: 215-223.
- KAPPES, S.M., WARREN, W.C., PRATT, S.L., LIANG, R. e ANTHONY, R.V., 1992. Quantification and cellular localization of ovine placental lactogen messenger ribonucleic acid expression during mid- and late gestation. *Endocrinology*, 131: 2829-2838.
- KIRAKOFE, G.H., WRIGHT, J.M., SCHALLES, R.R., RUDER, C.A., PARIS, S. e SASSER, R.G., 1993. Pregnancy-specific protein B in serum of postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.*, 71: 2199-2205.
- KLISCH, K., HECHT, W., PFARRER, C., SCHULER, G., HOFFMANN, B. e LEISER, R., 1999. DNA content and ploidy level of bovine placentomal trophoblast giant cells. *Placenta*, 20: 451-458.
- LEE, C.S., WOODING, F.B. e BRANDON, M.R., 1986. Immunogold co-localization of ovine placental lactogen and the antigen recognized by the SBU-3 monoclonal antibody in sheep placental granules. *J. Reprod. Fertil.*, 78: 653-662.
- LYNCH, K.A., ALEXANDER, R.M. e SASSER, R.G., 1992. The cloning and expression of the bovine pregnancy specific protein B (bPSPB) gene. *Biol. Reprod.*, 46 (Suppl. 1): 73 (abstract).
- MARTAL, J., LACROIX, M.C., LOURDES, C., SAUNIER, M. e WINTERNBERGER-TORRES, S., 1979. Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 56: 63-73.

- MARTAL, J., CHENE, N., CAMOUS, S., HUYNH, L., LANTIER, F., HERMIER, P., L'HARIDON, R., CHARPIGNY, G., CHARLIER, M. e CHAOUAT, G., 1997. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy. *Reprod. Fertil. Dev.*, 9: 355-380.
- MIALON, M.M., CAMOUS, S., RENAND, G., MARTAL, J. e MENISSIER, F., 1993. Peripheral concentrations of a 60-kDa pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 33: 269-282.
- MOOR, R.M. e ROWSON, L.E., 1966. Local uterine mechanisms affecting luteal function in the sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 11: 307-310.
- MORGAN, G., WOODING, F.B., BECKERS, J.F. e FRIESEN, H.G., 1989. An immunological cryo-ultrastructural study of a sequential appearance of proteins in placental binucleate cells in early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fertil.*, 86: 745-752.
- MORTON, H., 1998. Early pregnancy factor: an extracellular chaperonin 10 homologue. *Immunol. Cell Biol.*, 76: 483-496.
- MORTON, H., HEGH, V. e CLUMIE, G.J.A., 1974. Immunosuppression detected in pregnant mice by rosette inhibition test. *Nature*, 249: 459-460.
- MORTON, H., CAVANAGH, A.C., ATHANASAS-PLATIS, S., QUINN, K.A. e ROLFE, B.E., 1992. Early pregnancy factor has immunosuppressive and growth factor properties. *Reprod. Fertil. Dev.*, 4: 411-422.
- MURTHY, G.S., SCHELLENBERG, C. e FRIESEN, H.G., 1982. Purification and characterization of bovine placental lactogen. *Endocrinology*, 111: 2117-2124.
- NILSON, J.H., BOKAR, J.A., CLAY, C.M., FARMERIE, T.A., FENSTERMAKER, R.A., HAMERNIK, D.L. e KERI, R.A., 1991. Different combinations of regulatory elements may explain why placenta-specific expression of the glycoprotein hormone alpha-subunit gene occurs only in primates and horses. *Biol. Reprod.*, 44:231-237.
- NORTHEY, D.L. e FRENCH, L.R., 1980. Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. *J. Anim. Sci.*, 50: 298-302.
- PATEL, O.V., SULON, J., BECKERS, J.F., TAKAHASHI, T., HIRAKO, M., SASAKI, N. e DOMEKI, I., 1997. Plasma bovine pregnancy-associated glycoprotein concentrations throughout gestation in relationship to fetal number in the cow. *Eur. J. Endocrinol.*, 137: 423-428.
- RANILLA, M.J., SULON, J., CARRO, M.D., MANTCCÓN, A.R. e BECKERS, J.E., 1994. Plasmatic profiles of pregnancy-associated glycoprotein and progesterone levels during gestation in churra and merino sheep. *Theriogenology*, 42: 537-545.
- REIMERS, T.J., SASSER, R.G. e RUDER, C.A., 1985a. Production of pregnancy-specific protein by bovine binucleate trophoblastic cells. *Biol. Reprod.*, 32 (Suppl. 1): 55 (abstract).
- REIMERS, T.J., ULLMANN, M.B. e HANSEL, W., 1985b. Progesterone and prostanoid production by

- bovine binucleate trophoblastic cells. *Biol. Reprod.*, 33: 1227-1236.
- SASSER, R.G., RUDER, C.A., IVANI, K.A., BUTLER, J.E. e HAMILTON, W.C., 1986. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biol. Reprod.*, 35: 936-942.
- SASSER, R.G., CROCK, J. e RUDER, C.A., 1989. Characteristics of pregnancy-specific protein B in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 37 (Suppl.): 109-113.
- SHIMOMURA, K. e BREMEL, R.D., 1988. Characterization of bovine placental lactogen as a glycoprotein with N-Linked and O-linked carbohydrate side chains. *Mol. Endocrinol.*, 2: 845-853.
- SKINNER, J.G., GRAY, D., GEBBIE, F.E., BECKERS, J.F. e SULON, J., 1996. Field evaluation of pregnancy diagnosis using bovine pregnancy-associated glycoprotein (bPAG). *Cattle Practice (British Cattle Veterinary Association)*, 4: 281-284.
- SZENCI, O., TAVERNE, M.A., BECKERS, J.F., SULON, J., VARGA, J., BÖRZSÖNYI, L., HANZEN, CH. e SCHEKK, G., 1998a. Evaluation of false ultrasonographic diagnoses in cows by measuring plasma levels of bovine pregnancy-associated glycoprotein 1. *Vet. Rec.*, 142: 304-306.
- SZENCI, O., BECKERS, J.F., HUMBLOT, P., SULON, J., SASSER, R.G., TAVERNE, M.A., VARGA, J., BALTUSEN, R. e SCHEKK, G., 1998b. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 test for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 50: 77-88.
- SZENCI, O., HUMBLOT, P., BECKERS, J.F., SASSER, R.G., SULON, J., BALTUSEN, R., VARGA, J., BAJCSY C.A. e TAVERNE, M.A., 2000a. Plasma profiles of progesterone and conceptus proteins in cows with spontaneous embryonic/foetal mortality as diagnosed by ultrasonography. *Vet. J.*, 159: 287-290.
- SZENCI, O., BECKERS, J.F., VARGA, J., BAJCSY, C.A. e TAVERNE, M.A., 2000b. The accuracy of the diagnoses of early pregnancy and late embryonic mortality in cow: a review. *Folia Vet.*, 44: 199-201.
- TELLERIA, C.M., ZHONG, L., DEB, S., SRIVASTAVA, R.K., PARK, K.S., SUGINO, N., PARK-SARGE, O.K. e GIBORI, G., 1998. Differential expression of the estrogen receptors alpha and beta in the rat corpus luteum of pregnancy: regulation by prolactin and placental lactogens. *Endocrinology*, 139: 2432-2442.
- VERSTEGEN, J., FELLMANN, D. e BECKERS, J.F., 1985. Immunodetection of bovine chorionic somatomammotrophin (bCS). *Acta Endocrinol. (Copenh)*, 109: 403-410.
- WANGO, E.O., WOODING, F.B. e HEAP, R.B., 1990a. The role of trophoblastic binucleate cells in implantation in the goat: a morphological study. *J. Anat.*, 171: 241-257.
- WANGO, E.O., WOODING, F.B. e HEAP, R.B.; 1990b. The role of trophoblast binucleate cells in implantation in the goat: a quantitative study. *Placenta*, 11: 381-394.
- WANGO, E.O., HEAP, R.B. e WOODING, F.B., 1991. Progesterone and 5 beta-pregnanediol production

- by isolated fetal placental binucleate cells from sheep and goats. *J. Endocrinol.*, 129: 283-289.
- WANGO, E.O., HEAP, R.B. e WOODING, F.B. 1992. Regulation of steroid synthesis and metabolism in isolated binucleate cells of the placenta in sheep and goats. *J. Reprod. Fertil.*, 94: 203-211.
- WATHES, D.C. e WOODING F.B., 1980. An electron microscopic study of implantation in the cow. *Am. J. Anat.*, 159: 285-306.
- WEETH, H.J. e HERMAN, H.A., 1952. A histological and histochemical study of the bovine oviducts, uterus and placenta. *Res. Bull. Univ. Miss. Agric. Exp.*, 501 pp.
- WIMSATT, W.A., 1951. Observations on the morphogenesis, cytochemistry and significance of the binucleate giant cells of the placenta of ruminants. *Am. J. Anat.*, 89: 233-240.
- WOODING, F.B., 1983. Frequency and localization of binucleate cells in the placentomes of ruminants. *Placenta*, 4: 527-539.
- WOODING, F.B., 1984. Role of binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. *Am. J. Anat.*, 170: 233-250.
- WOODING, F.B., 1992. Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*, 13: 101-113.
- WOODING, F.B. e WATHES, D.C., 1980. Binucleate cell migration in the bovine placentome, *J. Reprod. Fertil.*, 59: 425-430.
- WOODING, F.B. e BECKERS, J.F., 1987. Trinucleate cells and the ultrastructural localisation of bovine placental lactogen. *Cell Tissue Res.*, 247: 667-673.
- WOODING, F.B., FLINT, A.P., HEAP, R.B., MORGAN, G., BUTTLE, H.L. e YOUNG, I.R., 1986. Control of binucleate cell migration in the placenta of sheep and goats. *J. Reprod. Fertil.*, 76: 499-512.
- WOODING, F.B., MORGAN, G., FORSYTH, I.A., BUTCHER, G., HUTCHINGS, A., BILLINGSLEY, S.A. e GLUCKMAN, P.D., 1992. Light and electron microscopic studies of cellular localization of oPL with monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, 40: 1001-1009.
- WOODING, F.B., MORGAN, G., MONAGHAN, S., HAMON, M. e HEAP, R.B., 1996. Functional specialization in the ruminant placenta: evidence for two populations of fetal binucleate cells of different selective synthetic capacity. *Placenta*, 17: 75-86.
- XIE, S., LOW, R.C., NAGEL, R.J., KRAMER, K.K., ANTHONY, R.V., ZOLI, A.P., BECKERS, J.F. e ROBERTS, R.M., 1991. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 10247-10251.
- XIE, S., LOW, B.G., NAGEL, R.J., BECKERS, J.F. e ROBERTS, R.M., 1994. A novel glycoprotein of the aspartic proteinase gene family expressed in bovine placental trophoctoderm. *Biol. Reprod.*, 51: 1145-1153.
- XIE, S., GREEN, J.A., BECKERS, J.F. e ROBERTS, R.M., 1995. The gene encoding bovine pregnancy-associated glycoprotein-I, an inactive member of the aspartic proteinase family. *Gene*, 159: 193-197.

- XIE, S., NAGEL, R.J., GREEN, J.A, BECKERS, J.F. e ROBERTS, R.M., 1996. Trophoblast-specific processing and phosphorylation of pregnancy-associated glycoprotein-1 in day 15 to 25 sheep placenta. *Biol. Reprod.*, 54: 122-129.
- XIE, S., GREEN, J.A, BAO, B., BECKERS, J.F., VALDEZ, K.E., HAKAMI, L. e ROBERTS, R.M., 1997a. Multiple pregnancy-associated glycoproteins are secreted by day 100 ovine placental tissue. *Biol. Reprod.*, 57: 1384-1393.
- XIE, S., GREEN, J.A, BAO, B., BIXBY, J.B., SZAFRANSKA, B., DEMARTINI, J.C., HECHT, S. e ROBERTS, R.M., 1997b. The diversity and evolutionary relationships of the pregnancy-associated glycoproteins, an aspartic proteinase subfamily consisting of many trophoblast-expressed genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 12809-12816.
- ZARROUK, A., ENGELAND, I., SULON, J. e BECKERS, J.F., 1999a. Determination of pregnancy-associated glycoprotein concentrations in goats (*Capra hircus*) with unsuccessful pregnancies: a retrospective study. *Theriogenology*, 51: 1321-1331.
- ZARROUK, A., ENGELAND, I.V., SULON, J. e BECKERS, J.F., 1999b. Pregnancy-associated glycoprotein levels in pregnant goats inoculated with *Toxoplasma gondii* or *Listeria monocytogenes*: a retrospective study. *Theriogenology*, 52: 1095-1104.
- ZOLI, A.P., ECTORS, F. e BECKERS, J.F., 1990. Ruminant gonads as accessory sources of pregnant specific protein ?, 72nd Annual Meeting of the Endocrine Society (Atlanta), p. 118.
- ZOLI, A.P., BECKERS, J.F., WOUTERS-BALLMAN, P., CLOSSET, J., FALMAGNE, P. e ECTORS, F., 1991. Purification and characterization of a bovine pregnancy-associated glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 45: 1-10.
- ZOLI, A.P., DEMEZ, P., BECKERS, J.F., REZNIK, M. e BECKERS, A., 1992a. Light and electron microscopic immunolocalization of bovine pregnancy-associated glycoprotein in the bovine placentome. *Biol. Reprod.*, 46: 623-629.
- ZOLI, A.P., GUILBAULT, L.A., DELAHAUT, P., BENITEZ-ORTIZ, W. e BECKERS, J.F., 1992b. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application in pregnancy diagnosis. *Biol. Reprod.*, 46: 83-92.
- ZOLI, A.P., BECKERS, J.F. e ECTORS, F., 1995. Isolement et caractérisation partielle d'une glycoprotéine associée à la gestation chez la brebis. *Ann. Méd. Vét.*, 139: 177-184.