



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA**  
**DOUTORADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**WALDJÂNIO DE OLIVEIRA MELO**

**USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (rbST) E COMPARAÇÃO**  
**ENTRE DOIS MÉTODOS DE ANÁLISE DO LEITE DE BÚFALAS**

**BELÉM**

**2018**

**WALDJÂNIO DE OLIVEIRA MELO**

**USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (rbST) E COMPARAÇÃO  
ENTRE DOIS MÉTODOS DE ANÁLISE DO LEITE DE BÚFALAS**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da  
Amazônia, como parte das exigências do Curso de  
Doutorado em Saúde e Produção Animal na  
Amazônia: área de concentração Produção  
Animal, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Cristian Faturi

Co-orientador: Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana

**BELÉM**

**2018**

**WALDJÂNIO DE OLIVEIRA MELO**

**USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (rbST) E COMPARAÇÃO  
ENTRE DOIS MÉTODOS DE ANÁLISE DO LEITE DE BÚFALAS**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do  
Curso de Doutorado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração  
Produção Animal, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Cristian Faturi

Co-orientador: Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana

23 de fevereiro de 2018

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Rinaldo Batista Viana- Co-orientador/Presidente da Banca  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

---

Dr. José Dantas Ribeiro Filho - 1ª Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV

---

Dr. André Guimarães Maciel e Silva- 2ª Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ-UFPA

---

Dr. Pedro Paulo Maia Teixeira - 3ª Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ-UFPA

---

Dr. Bruno Moura Monteiro- 4º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

“A ferrovia que leva ao sucesso é construída em cima de um solo de humildade com pesados trilhos chamados erros que somente são fixados numa linha reta com maciços pregos de perseverança”.

Eduardo Siqueira Filho

Deus e a minha família que sempre foram  
meu alicerce o que permitiu mais essa  
conquista.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho representa um sonho que só foi possível se concretizar graças à colaboração direta e indireta de muitas pessoas. A essas pessoas manifesto minha eterna gratidão!

- A Deus, pai todo poderoso, pelas bênçãos concedidas e por permitir superar obstáculos e conquistar grandiosas vitórias, a ele devo a cada passo dado rumo a esta conquista;
- Ao meu pai, VALDEMIR VALINO DE MELO, pelo apoio, incentivo, por acreditar em minha capacidade e por ser um dos grandes responsáveis por essa vitória.
- A minha mãe, JOANA FERNANDES DE OLIVEIRA MELO, pelas incansáveis noites de oração, pelo imenso incentivo e dedicação, por mostrar que cada pinga de suor derramado, cada sono trocado por uma noite de estudos se transformaria no futuro (hoje) numa grande recompensa (“concretizar mais um sonho”). “Tudo é possível, quando se tem fé”. Sem dúvida uma das grandes responsáveis por este momento inexplicável.
- As minhas irmãs JANDEVÂNIA e MARIVÂNIA, pelo apoio, compreensão e incentivo,
- Aos amigos POSSIDÔNIO RODRIGUES, GERSON DIEGO PAMPLONA e dona EDNA, por me acolherem em sua casa durante as disciplinas do doutorado.
- Ao prof. Dr. CRISTIAN FATURI, pela orientação e valiosos ensinamentos.
- Ao prof. Dr. RINALDO BATISTA VIANA, pela orientação, paciência, oportunidade, confiança e pelos ensinamentos preciosos, os quais, levarei por toda vida.
- A Profa Dra. LUCIARA CELI DA SILVA CHAVES e a todos os membros do PROSEG, pela ajuda na análise dos dados da fazenda.
- Ao prof. Dr. BRUNO MOURA MONTEIRO, pela enorme contribuição na análise estatística dos resultados e elaboração do trabalho.
- Aos ex-membros do Gaia/Ufra: Aline Kzam, Andrè Mendonça, Antônio Soares, Bianca Amorim, Eliomar Sousa, Glaucia Bragança, Keyla Danielle e Rodrigo Sousa, pela valiosa e indispensável ajuda na realização do experimento.
- Aos ex-membros do PETVet/Ufra: Adriano Leão, Caio Cesar, Caroline Pessoa,

Damazio Campos, Danielle Góes, Gabriel Furtado, Gustavo Lobato, Helen Santos, Henrique Piram, Natália Lopes, Nathaly Monteiro, Priscila Del Aguila, Raquel Fernández e Rodrigo Albuquerque pela valiosa e indispensável colaboração na realização do experimento.

- A Zootecnista ACAÍNA KISS SILVA ELIAS e agrônoma SAMARA SACRAMENTO pela contribuição na análise bromatológica da ração.
- Ao Dr. Sebastião Faria Jr e a MSD Saúde Animal, pelo suporte financeiro dado a esse projeto.
- A Universidade Federal Rural da Amazônia, pelo custeio do envio das amostras para análise.
- A fazenda Murici (Kakuri), ao Sr. Eduardo Daher, ao zootecnista Eduardo Daher Filho pela concessão dos animais para o presente estudo e aos funcionários: Barba, Ronaldo, Baixinho e Mário pela ajuda na realização do experimento.
- Ao campus da Ufra Paragominas, por entender a importância do doutorado em minha vida, permitindo as viagens para as disciplinas.
- Aos membros da banca de qualificação e defesa, professores (as) José Dantas Ribeiro Filho (UFV), André Guimarães Maciel e Silva (UFPA), Pedro Paulo Maia Teixeira (UFPA), Bruno Moura Monteiro (UFRA), Jamile Andréa Rodrigues da Silva (UFRA), Ebson Candido (UFRA) e Luciara Celi da Silva Chaves (UFRA) pela valiosa contribuição na escrita do trabalho.
- As búfalas que participaram do experimento, as quais devo sinceras desculpas, mesmo sem compreender, dedicaram suas vidas aos meus estudos, contribuindo na minha formação de DOUTOR.
- E a todas as demais pessoas que conheci e tornei-me amigo na Universidade e fora dela, durante esses quatro anos de curso. Em fim, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para mais esta conquista, sintam-se vitoriosos também.

**MUITO OBRIGADO!!!**

---

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

### CAPÍTULO II

- Figure 1- Dispersion diagram, simple non-polynomial regression equation, coefficient of determination (R<sup>2</sup>) and significance level (P) between levels of fat (A), protein (B), lactose (C) and non-fat solids (D) obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ/USP). 45

### CAPÍTULO III

- Figura 1- Constituintes e contagem de células somáticas (CCS) do leite de búfalas leiteiras ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Paineis A – Produção de leite (Kg); Paineis B – Gordura do leite (% m/m); Paineis C- Proteína do leite (% m/m); Paineis D- Lactose do leite (% m/m); Paineis E- Sólidos totais do leite (% m/m); Paineis F- Extrato seco desengordurado do leite (% m/m); Paineis G- Contagem de células somáticas do leite (x1000)/mL; Paineis H- Eletrocondutividade (mS/cm). 54

### CAPÍTULO IV

- Figura 1- Produção de leite (Kg) e metabólitos sanguíneos energéticos (mg/dL) de búfalas ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Paineis A – Produção de leite (Kg); Paineis B – Glicose (mg/dL); Paineis C- Colesterol (mg/dL); Paineis D- triglicérides (mg/dL). 68
- Figura 2- Metabólitos sanguíneos proteicos (mg/dL) de búfalas ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Paineis A – Proteína Total (mg/dL); Paineis B- Albumina (mg/dL); Paineis C- Ureia (mg/dL); Paineis D- Creatinina (mg/dL). 69
- Figura 3- Escore de condição corporal (1-5) e metabólitos sanguíneos minerais (mg/dL) de búfalas ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Paineis A – Escore de condição corporal (1-5); Paineis B – Cálcio (mg/dL); Paineis C- Fósforo (mg/dL); Paineis D- Magnésio (mg/dL). 70
-



---

## LISTA DE TABELAS

---

### CAPÍTULO II

Table 1-	Mean values, standard errors of the mean, minimum and maximum values of the production variables and physical-chemical analysis of buffalo milk obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ/USP).	43
Table 2-	Correlation coefficients and significance levels between levels of fat, protein, lactose and NFS obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-POANA 009 (ESALQ/USP).	44

### CAPÍTULO III

Tabela 1-	Composição bromatológica da ração fornecida para as búfalas leiteiras	50
Tabela 2-	Média e desvio padrão (DP) da produção de leite (Kg), constituintes do leite (% m/m) e contagem de células somáticas (x 1000/mL) no leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle) durante a lactação	51

### CAPÍTULO IV

Tabela 1-	Média e desvio padrão (DP) da produção de leite (Kg), metabólitos sanguíneos (mg/dL) e ECC (1-5) de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (controle) durante a lactação	65
-----------	--	----

---

## RESUMO

MELO, W. O. 2018. Uso da somatotropina recombinante bovina (rbST) e comparação entre dois métodos de análise de leite de búfalas. 101 f. Tese – Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia. Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará. 2018.

Este estudo foi desenvolvido em três etapas distintas: inicialmente, (1) avaliou-se a influência da somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a produção e constituintes do leite de búfalas entre 63 -154 dias de lactação; na segunda etapa (2) objetivou-se quantificar os efeitos das aplicações de rbST sobre a produção de leite, o ganho de peso e o metabolismo energético e mineral durante a lactação de búfalas; por fim, (3) buscou-se comparar os parâmetros físico-químicos do leite de búfalas obtidos através dos métodos de infravermelho-PO ANA 009 ou analisador ultrassônico de leite (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgária) e estabelecer quais constituintes de leite de búfalas podem ser determinados pelo método de ultrassom. Foram utilizadas 22 búfalas adultas da raça Murrah (*Bubalus bubalis*). Todas as búfalas eram múltiparas, com média de  $66 \pm 1,74$  dias em lactação (DEL) e  $6,97 \pm 1,55$  litros de leite por dia. Os animais foram mantidos em sistema de pastejo rotacionado, recebendo água, sal mineral *ad libitum* e 1 Kg de ração/animal/dia. As búfalas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais: 11 búfalas que receberam a aplicação de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (Grupo rbST; 2 mL de Boostin – MSD Saúde Animal) a cada 14 dias, por via subcutânea; e 11 búfalas que não receberam aplicação de rbST (Grupo Controle). Semanalmente foi realizado o controle da produção de leite e a coleta das amostras de sangue. A utilização de 500 mg de rbST administrados quinzenalmente, entre 63 e 154 dias em lactação, não alterou a produção de leite, a proporção dos constituintes e a CCS do leite de búfalas leiteiras. Também não foi observado efeitos da rbST sobre o perfil metabólico (energético, proteico e mineral) das búfalas em lactação. Os resultados obtidos por meio de analisador ultrassônico de leite foram diferentes daqueles feitos por infravermelho-PO ANA 009, porém apresentaram correlação positiva alta para gordura ( $r = 0,84$ ), podendo, portanto, ser utilizado para determinação de gordura.

**Palavras-chave:** Búfala, constituintes do leite, hormônio do crescimento, produção de leite, perfil metabólico.

## ABSTRACT

MELO, W. O. 2018. Use of recombinant bovine somatotropin (rbST) and comparison between two methods of milk analysis in buffaloes. 101 f. Tese – Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia. Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará. 2018.

This study was carried out in three distinct stages: (1) initially the effects of bovine recombinant somatotropin (rbST) over the production and constituents of buffalo milk between 63 and 154 days of lactation were evaluated; in the second stage (2) the objective was to quantify the effects of rbST on the energetic and mineral metabolism of buffaloes during lactation; finally, (3) the objective was to compare the physical-chemical constituents of buffalo milk determined by infrared-PO ANA 009 or ultrasonic milk analyzer (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria), and to establish which constituents of buffalo milk can be determined through the use of ultrasound method. Twenty two adult buffaloes Murrah (*Bubalus bubalis*) were used. All buffaloes were multiparous with a mean of  $66 \pm 1.74$  days in milk (DEL) and  $6.97 \pm 1.55$  liters of milk per day. The animals were kept in intermittent stocking system, receiving water, mineral salt *ad libitum* and 1 kg of feed/animal/day. The buffaloes were randomly assigned into two experimental groups: 11 buffaloes that received 500 mg of recombinant bovine somatotropin (rbST Group, 2 mL of Boostin - MSD Animal Health) every 14 days, subcutaneously; and 11 buffaloes that did not receive rbST (Control Group). Control of milk production and blood collection were performed weekly. The use of 500 mg of rbST administered biweekly, between 63 and 154 days in milk, did not alter the milk production, the proportion of the constituents and the CCS of buffalo milk. No effects of rbST over the metabolic profile (energy and mineral) of lactating buffaloes were also observed. The results obtained using the ultrasonic milk analyzer were different from those made by infrared-PO ANA 009, but showed a high positive correlation for fat ( $r = 0.84$ ) and could, therefore, be used for fat determination.

**Keywords:** Buffalo, milk constituents, growth hormone, milk production, metabolic profile.

---

**SUMÁRIO**

---

<b>1</b>	<b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b>	<b>14</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO I- SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA, UMA BIOTÉCNICA PARA O INCREMENTO DA PRODUÇÃO DE LEITE EM BÚFALAS</b>	<b>19</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>19</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>19</b>
	<b>RESUMEN</b>	<b>19</b>
<b>2.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>HORMÔNIO DO CRESCIMENTO OU SOMATOTROPINA</b>	<b>20</b>
<b>2.2.1</b>	<b>A somatotropina recombinante bovina e a produção de leite de búfalas</b>	<b>22</b>
<b>2.2.2</b>	<b>A somatotropina recombinante bovina e os constituintes do leite de búfalas</b>	<b>23</b>
<b>2.2.3</b>	<b>A somatotropina recombinante bovina e o metabolismo energético em búfalas leiteiras</b>	<b>24</b>
<b>2.2.4</b>	<b>A somatotropina recombinante bovina e o metabolismo proteico em búfalas leiteiras</b>	<b>25</b>
<b>2.2.5</b>	<b>A somatotropina recombinante bovina e o metabolismo mineral em búfalas leiteiras</b>	<b>26</b>
<b>2.3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>27</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO II- Use of ultrasound spectroscopy as an alternative method to measure the physical-chemical constituents of buffalo milk</b>	<b>33</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>33</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>34</b>
<b>3.1</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>34</b>
<b>3.2</b>	<b>MATERIALS AND METHODS</b>	<b>36</b>
<b>3.3</b>	<b>RESULTS AND DISCUSSION</b>	<b>38</b>
<b>3.4</b>	<b>CONCLUSION</b>	<b>40</b>
	<b>ETHICS AND BIOSAFETY COMMITTEE</b>	<b>41</b>
	<b>REFERENCES</b>	<b>41</b>

---

---

## SUMÁRIO

---

<b>4</b>	<b>CAPÍTULO III- Uso da somatotropina recombinante bovina em búfalas leiteiras I: produção e composição físico-química do leite</b>	<b>47</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>47</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>47</b>
<b>4.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>48</b>
<b>4.2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>49</b>
<b>4.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>51</b>
<b>4.4</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>56</b>
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO IV- Uso da somatotropina recombinante bovina em búfalas leiteiras II: metabolismo energético e mineral</b>	<b>60</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>60</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>60</b>
<b>5.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>61</b>
<b>5.2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>62</b>
<b>5.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>64</b>
<b>5.4</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS</b>	<b>74</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>75</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>85</b>

---

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

O Brasil com sua vasta extensão territorial, mais de 8,5 milhões de Km<sup>2</sup> de solos férteis, desfrutando de clima ameno, com bons índices de precipitação pluviométrica e com inúmeras espécies de plantas forrageiras nativas, revelou desde cedo uma vocação natural para a criação de animais domésticos de interesse zootécnico, com destaque para a pecuária (Velloso, 2000).

Atingir a eficiência e a rentabilidade tem sido o grande objetivo nos diversos setores de produção animal, sobretudo no que diz respeito às propriedades leiteiras. A utilização de estratégias eficientes para seleção de vacas e touros, aliadas aos fatores de âmbito econômico e de manejo, é importante para acelerar o incremento da produtividade da pecuária leiteira nacional, uma vez que a mesma figura entre as principais atividades do setor agropecuário brasileiro (Rodrigues, 2008).

Não diferindo desse cenário previamente exposto, o mercado para produtos lácteos de origem bubalina encontra-se em crescimento, fato que tem levado os produtores a buscar técnicas que propiciem maior disponibilidade da produção de leite para a industrialização (Gonsalves Neto et al., 2009, FAO, 2015).

No entanto, os índices produtivos da pecuária brasileira estão muito abaixo do desejável. O aumento na produção de leite nas últimas décadas deve-se mais, à expansão das fronteiras utilizadas e aumento efetivo do rebanho do que pelo aumento real da produtividade (Moraes Junior, 2008).

Dessa forma, o uso de biotécnicas tal como a somatotropina bovina (bST) considerada alternativa para aumentar a produção de leite e a persistência da lactação, vem sendo muito difundida (Rodrigues, 2008). Também conhecida como hormônio de crescimento (GH), a somatotropina (ST) é um hormônio pituitário que controla muitos aspectos de crescimento animal, metabolismo de nutrientes além de afetar a função reprodutiva (Pivato, 2005). Durante a fase de crescimento, sob ação deste hormônio, quase todas as células nos tecidos aumentam em volume e em número, propiciando um crescimento dos tecidos, dos órgãos e, conseqüentemente, o crescimento corporal.

Com o desenvolvimento da biotecnologia e o advento da tecnologia do DNA recombinante foi possível, nos anos 80, a síntese da somatotropina recombinante, sendo realizado em 1982 o primeiro estudo sobre o seu efeito em vacas leiteiras. Sua venda foi autorizada pelo governo brasileiro em 1990 e sua aprovação para uso comercial em 1994 pela FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos passando a ser utilizada extensivamente (Bauman, 1992).

Em vista dos resultados promissores obtidos por Bauman *et al.* (1982), desencadeou-se um substancial interesse, entre os pesquisadores, sobre os efeitos da somatotropina recombinante bovina (rbST) na fisiologia da lactação, bem como as pesquisas que relacionam os resultados na produção de leite, reprodução e saúde animal (Feckinghaus, 2009).

Alguns estudos mostram que a administração de rbST melhora a eficiência da atividade leiteira, promovendo aumentos da produção de leite que variam de 3-40%, melhora a persistência da produção, sem alterações nos teores de gordura, proteína e lactose (Santos *et al.*, 2001) bem como não evidenciaram alterações no número de células somáticas no leite em decorrência ao tratamento hormonal com somatotropina (Bauman *et al.*, 1999).

Seu mecanismo de ação envolve uma série de arranjos metabólicos no tecido animal, direcionando nutrientes para a glândula mamária, caracterizando-se como um excelente homeorretico de nutrientes que aumenta a eficiência biológica para síntese de leite (Bauman *et al.*, 1992).

Acredita-se que a utilização de rbST poderia propiciar um aumento da produção de leite em búfalas sem contudo, causar alterações nos constituintes do leite. Baseado nesse possível uso da técnica nessa espécie, objetivou-se com esse trabalho estudar o desempenho produtivo e determinação de constituintes bioquímicos, minerais e eletrólitos séricos de búfalas leiteiras em resposta a aplicação de somatotropina recombinante bovina (rbST), bem como comparar dois métodos para análise dos constituintes do leite de búfalas.

Para atingir o objetivo proposto nessa tese, o desenvolvimento dessa pesquisa contou com três etapas: 1) a primeira envolveu um levantamento do estado da arte do uso de rbST em búfalas, frente a utilização do hormônio em vacas; 2) a segunda compreende o uso da espectroscopia de ultrassom como método alternativo para a determinação das características físico-químicas do leite de búfalas; e, 3) a terceira buscou determinar a utilização de rbST em búfalas leiteiras determinando sua influencia sobre a produção e composição físico-química do leite bem como sobre o metabolismo energético e mineral de búfalas leiteiras.

Assim essa tese apresenta-se em quatro capítulos:

## CAPÍTULO I

### Artigo de revisão

## **2 SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA, UMA BIOTÉCNICA PARA O INCREMENTO DA PRODUÇÃO DE LEITE EM BÚFALAS**

## CAPÍTULO II

### Artigo original

#### **3 USO DA ESPECTROSCOPIA DE ULTRASSOM COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA A DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE DE BÚFALAS**

## CAPÍTULO III

### Artigo original

#### **4 USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA EM BÚFALAS LEITEIRAS I: PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE**

## CAPÍTULO IV

### Artigo original

#### **5 USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA EM BÚFALAS LEITEIRAS II: METABOLISMO ENERGÉTICO E MINERAL**

## REFERÊNCIAS

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

BAUMAN, D.E.; Bovine somatotropin and lactation: from basic science to comercial application. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 17, n.1, p. 101-116, 1999.

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

FECKINGHAUS, M.A. Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação. 89 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. 2015. Disponível em:<<http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/E>> Acesso em 01 de setembro de 2017.



- GONSALVES NETO, J.; FERNANDES, S.A.A.; SILVA, F.F.; PEDREIRA, M.S. Uso de somatotropina bovina em búfalas: efeitos sobre a produção e composição do leite. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.6, n. 5, p.1056-1071, 2009.
- MORAES JUNIOR, F.J. Efeito da somatotropina recombinante bovina (rbST) na resposta ovulatória e na qualidade dos embriões de vacas da raça Nelore. 52 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.
- PIVATO, I. Aspiração Folicular em Bovinos-Efeito do bST. *Workshop de Reprodução Animal*, v.02, p.61-76, 2005.
- RODRIGUES, M. Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a Produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa. 80 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.
- SANTOS, R.A.; TEIXEIRA, J.C.; ABREU, L.R.; MUNIZ, J.A.; DERESZ, F. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rbST) na produção e composição do leite. *Ciência e Agrotecnologia*, v.25, n.6, p.1435-1445, 2001.
- VELLOSO L. Evolução e tendências da pecuária bovina de corte no Brasil. In: *Produção do novilho de corte. Anais do 4º Simpósio sobre pecuária e corte*. p.1-40.FEALQ, Piracicaba-SP, 2000.

## **CAPÍTULO I**

**Artigo de revisão**

**2 SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA, UMA BIOTÉCNICA  
PARA O INCREMENTO DA PRODUÇÃO DE LEITE EM BÚFALAS**

## **2 SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA, UMA BIOTÉCNICA PARA O INCREMENTO DA PRODUÇÃO DE LEITE EM BÚFALAS<sup>1</sup>**

### **RESUMO**

Objetivou-se com o presente trabalho, buscar maior entendimento sobre o desempenho produtivo e constituintes bioquímicos de búfalas leiteiras em resposta a aplicação de somatotropina recombinante bovina (rbST). Apesar do uso da somatotropina possuir efeitos positivos na produção de leite bovino, ainda há poucas pesquisas que relacionam o efeito desse hormônio em bubalinos. Em relação a esses estudos, ainda existem resultados discrepantes na literatura, sendo que alguns trabalhos não demonstram influência do rbST no desempenho produtivo e constituintes bioquímicos de búfalas leiteiras enquanto outros concluem que ele contribui para o incremento da produção de leite e alteração nos constituintes lácteos e metabolismo energético, proteico e mineral desses animais. Fatores intrínsecos do animal como espécie, estágio de lactação e status nutricional além da dose e frequência de aplicação podem interferir nas respostas produtivas em função da administração da somatotropina.

**Palavras-chave:** bubalino, constituintes lacteos, hormônio do crescimento, metabolismo

### **RECOMBINANT BOVINE SOMATOTROPIN (RBST), A BIOTECHNIQUE FOR INCREASING MILK PRODUCTION IN BUFFALOES**

#### **ABSTRACT**

The objective of this research was to obtain a better understanding of the productive performance and biochemical constituents of milk buffaloes in response to bovine recombinant somatotropin (rbST). Although the use of somatotropin has positive effects on the production of bovine milk, there is still little research that relates the effect of this hormone on buffaloes. Regarding these studies, there are still discrepant results in the literature, and some studies do not demonstrate the influence of rbST on the productive performance and biochemical constituents of milk buffaloes. On the other hand, other studies concluded that the use of this somatotropin contributes to the increase of milk production, besides causing alteration in the milk constituents and energy, protein and mineral metabolism of these animals. Intrinsic factors such as species, lactation stage and nutritional status, in addition to the dose and frequency of application may interfere with productive responses as a function of somatotropin administration.

**Keywords:** buffalo, dairy constituents, growth hormone, metabolism

### **SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA, UNA BIOTÉCNICA PARA EL INCREMENTO DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN BÚFALAS**

#### **RESUMEN**

Se objetivó con el presente trabajo, buscar mayor entendimiento sobre el desempeño productivo y constituyentes bioquímicos de leche de búfalas en respuesta a la aplicación de somatotropina bovina recombinante (rbST) o la hormona recombinante del crecimiento bovino (rBGH). Aunque el uso de la rbST tiene efectos positivos en la producción de leche de las vacas, todavía hay pocas investigaciones que relacionan su efecto en las búfalas. Sin embargo existen algunos estudios, pero sus resultados son discrepantes en la literatura, siendo que algunos trabajos no demuestran influencia de la rbST en el desempeño productivo y constituyentes bioquímicos de búfalas lecheras, mientras que otros concluyen que contribuye al incremento de la producción

<sup>1</sup> Este capítulo segue as normas de apresentação da revista Veterinária e Zootecnia (Unesp)

de leche y alteración de los constituyentes lácteos y metabolismo energético, proteico y mineral de estos animales. Los factores intrínsecos del animal como especie, estado de lactancia y estado nutricional además de la dosis y frecuencia de aplicación pueden interferir en las respuestas productivas en función de la administración de la somatotropina.

**Palabras clave:** bubalino, producción de leche, constituyentes lacteos, metabolismo

## 2.1 INTRODUÇÃO

Em razão de sua importância na alimentação humana, o leite, tornou-se um significativo objeto de pesquisa, haja vista a necessidade do aumento da produtividade e qualidade do produto obtido e, assim, tornar a atividade mais rentável e economicamente viável (1).

Desse modo, o uso de biotécnicas, como a somatotropina recombinante bovina (rbST), considerada alternativa para aumentar a produção de leite e a persistência da lactação, vem sendo muito difundida (2).

Também conhecida como hormônio de crescimento, a somatotropina é um hormônio pituitário que controla aspectos relacionados ao crescimento animal, metabolismo de nutrientes, além de afetar a função reprodutiva. Durante a fase de crescimento, sob ação deste hormônio, quase todas as células nos tecidos aumentam em volume, propiciando um crescimento dos tecidos, dos órgãos e, conseqüentemente, o crescimento corporal (3).

Com o desenvolvimento da biotecnologia e o advento da tecnologia do DNA recombinante foi possível, nos anos 80, a síntese da somatotropina recombinante, sendo realizado em 1982 o primeiro estudo sobre o seu efeito em vacas leiteiras. Sua venda foi autorizada pelo governo brasileiro em 1990 e sua aprovação para uso comercial em 1994 pela Food and Drug Administration (FDA), nos Estados Unidos, passando a ser utilizada comercialmente em larga escala (4).

Em vista dos resultados promissores obtidos por Bauman na década de 1982, desencadeou-se um substancial interesse entre os pesquisadores sobre os efeitos da rbST na fisiologia da lactação, bem como pesquisas que relacionam os resultados na produção de leite, reprodução e saúde animal (5).

Seu mecanismo de ação envolve uma série de arranjos metabólicos no tecido animal, direcionando nutrientes para a glândula mamária, caracterizando-se como um excelente coordenador de nutrientes que aumenta a eficiência biológica para síntese de leite (4).

A administração de rbST contribui para a eficiência da atividade leiteira, promovendo aumentos da produção de leite que variam de 3 a 40%, aumentando a persistência da produção, sem alterações nos teores de gordura, proteína e lactose (1), bem como no número de células somáticas do leite (5).

Diversos estudos têm sido realizados para verificar a influência desse hormônio sobre os constituintes do leite (1, 6) e nos metabólitos sanguíneos em vacas leiteiras (6,7), no entanto, ainda há poucas informações sobre a ação da rbST em búfalas. Dessa forma, objetivou-se com essa revisão, realizar um levantamento sobre o desempenho produtivo e constituintes bioquímicos de búfalas leiteiras em resposta a aplicação de somatotropina recombinante bovina.

## 2.2 HORMÔNIO DO CRESCIMENTO OU SOMATOTROPINA

O hormônio do crescimento (GH), também conhecido como hormônio somatotrófico (STH), foi identificado a partir da hipófise bovina por influenciar vários processos metabólicos e fisiológicos (8). Trata-se de um peptídeo de cadeia única, formado por 191 aminoácidos e liberado pela adenohipófise mediante uma série de estímulos fisiológicos que envolvem, entre

outros fatores, ações do fator liberador de GH (GnRH) e da somatostatina (SMS), flutuações nas concentrações sanguíneas de glucagon, insulina, fatores de crescimento semelhantes à insulina 1 e 2 (IGF-1 e IGF-2, respectivamente) e hormônios estrogênicos (9).

Sua secreção é estimulada pela ação do hormônio liberador de GH (GnRH) e inibida pela somatostatina (fator inibidor de GH), ambos produzidos pelo hipotálamo (4). Durante a fase de crescimento, sob ação deste hormônio, quase todas as células nos tecidos aumentam em volume e em número, propiciando um crescimento dos tecidos, dos órgãos e, conseqüentemente, o crescimento corporal (3).

Experimentos na década de 1930 demonstraram que a somatotropina bovina, quando extraída da hipófise de uma vaca e injetada em outra, poderia aumentar a produção de leite na vaca que recebeu a injeção. No entanto, a baixa disponibilidade do hormônio limitou o avanço das pesquisas com bST (10).

Dessa forma, a produção em massa da somatotropina recombinante só se tornou realidade no início de 1980 com o advento de tecnologias capazes de produzir o DNA recombinante (4), onde o gene responsável pela produção de somatotropina bovina foi transferido com sucesso em plasmídeos da bactéria *Escherichia coli*, e o produto resultante, chamado somatotropina bovina recombinante (rbST), foi posteriormente capaz de ser produzido em quantidade comercial (11).

Dentre os hormônios de crescimento, a somatotropina bovina (BST) foi um dos primeiros hormônios recombinantes produzidos em larga escala para indústria animal (4). A proteína recombinante da rbST difere do natural, por poucos aminoácidos na sua constituição, cerca de 0 a 8 dependendo do processo de fabricação (1).

A Food and Drug Administration (FDA) órgão que avalia a liberação de novas drogas para uso comercial, aprovou a rbST (somatotropina bovina recombinante) em fevereiro de 1994 para uso nos Estados Unidos. Posteriormente, as agências reguladoras em 34 países chegaram a conclusões semelhantes e 24 países, inclusive o Brasil, também aprovaram sua utilização (12).

Essa aprovação foi concedida após evidências científicas sugerirem que a utilização da rbST não acarreta risco aos seres humanos ao consumirem leite ou carne de vacas tratadas, e por também não apresentar qualquer impacto adverso sobre o animal (13). Os efeitos biológicos desse hormônio têm sido amplamente estudados e a capacidade desta biotécnica para aumentar a eficiência da produtividade, mantendo a saúde e o bem-estar de vacas em lactação é bem estabelecida (14).

A somatotropina é um controlador homeorrético que altera a partição de nutrientes em uma vaca em lactação de forma que mais nutrientes são utilizados para a síntese de leite. Isso envolve a coordenação do metabolismo de vários órgãos de corpo e tecidos, assim como o metabolismo de todas as classes de nutrientes (carboidratos, lipídios, proteínas e minerais). Esses ajustes no metabolismo promovidos pela rbST são de grande importância, principalmente durante o período inicial de sua utilização quando a produção de leite aumenta, mas a ingestão de alimentos não (2,4).

Entre outras respostas orgânicas, as condições metabólicas que se seguem à administração de rbST incluem alterações na conservação de nitrogênio no organismo, utilização da glicose pelos tecidos periféricos e diminuição de sua oxidação; e o aumento da gliconeogênese (14). Entretanto, o aspecto lipolítico da rbST talvez seja a alteração metabólica mais contundente (15).

Segundo Mattos (16), a rbST regula o crescimento, afeta o metabolismo dos nutrientes: carboidratos, lipídeos, proteínas e minerais; estimula a produção de leite e melhora a eficiência produtiva. Sua ação é lenta, levando cerca de uma ou duas horas até vários dias antes de se observarem seus efeitos biológicos (17).

Dessa forma, segundo Rangel *et al.* (15) o modo de ação da somatotropina consiste em estimular direta ou indiretamente a síntese de proteína e glicose, a oxidação de gordura, inibir

o transporte de glicose para os tecidos periféricos e desencadear, em animais lactantes, o efeito homeorrético ou galactopoiético.

De acordo com Prado *et al.* (17) a somatotropina age nos tecidos muscular, adiposo e hepático, mostrando efeitos no aumento dos tecidos esqueléticos e musculares, no aumento da disponibilidade de glicose na circulação e no estímulo do pâncreas para a liberação de insulina.

A glicose adicional é usada pela glândula mamária como um precursor da lactose explicando o aumento na produção atribuída ao hormônio. No tecido adiposo diminui a lipogênese basal, se está em balanço energético positivo, e aumenta lipólise basal em balanço energético negativo acarretando na elevação da energia disponível para a produção de leite, melhorando a eficiência alimentar, além da produção. Apesar disso, nenhuma mudança foi observada na composição de proteínas do leite (18).

Cerca de 30% da sequência das cadeias de aminoácidos da somatotropina bovina é comum aos seres humanos, sendo essas diferenças responsáveis para que a rbST não atuem em seres humanos. Mesmo que ingerida ou injetada, a somatotropina não é reconhecida pelos receptores humanos e é quebrada pelas enzimas do trato digestivo como qualquer outra proteína (4).

Portanto, para se obter efeito biológico o hormônio deve se unir a um receptor específico, localizado na célula alvo. Conseqüentemente, os receptores da somatotropina humana não reconhecem a somatotropina bovina, evitando o desencadeamento do processo hormonal (4).

Estudos com bovinos leiteiros indicam que o leite de animais tratados com rbST não difere do leite de animais controle, tanto na composição química (proteína, gordura) quanto na presença do produto (16).

### **2.2.1 A somatotropina recombinante bovina e a produção de leite de búfalas**

A somatotropina recombinante bovina (rbST) é um dos hormônios utilizados nas fazendas produtoras de leite. Administração de uma formulação de liberação lenta de rbST melhora a persistência da lactação, atingindo um pico nos primeiros sete dias pós aplicação e diminuindo lentamente até o próximo tratamento. No entanto, a resposta a esse hormônio varia consideravelmente dependendo da espécie, esquema de tratamento, estágio de lactação e nutrição do animal. (19).

O padrão de resposta à utilização da rbST é o aumento gradual da produção de leite poucos dias após a aplicação, sendo atingida a máxima resposta durante a primeira semana. Ao cessar a aplicação de rbST, gradualmente a produção de leite retorna aos níveis anteriores ao início da aplicação. Caso o tratamento seja continuado, o aumento na produção de leite é sustentado (20). Dessa forma, a aplicação desse hormônio em vacas leiteiras influencia a produção de leite e o formato da curva de lactação.

O conhecimento encontrado da rbST em relação à lactação prolongada pode resultar em uma maior porcentagem de vida produtiva da vaca, um maior número de dias em lactação, menor número de dias secos, maior produção de leite em sua vida, e maior persistência na produção de leite (21).

Sua capacidade de melhorar produção de leite é principalmente devido a uma ação sobre a partição dos nutrientes absorvidos em favor da glândula mamária. Ela envolve tanto os efeitos diretos do hormônio nos tecidos e efeitos indiretos mediados pelo fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1) (22). O aumento da produção de leite é em parte devido à elevação do fluxo sanguíneo na glândula mamária, promovendo maior suprimento de sangue, alterando o metabolismo de glicose (síntese de lactose), aumentando a lipólise e a lipogênese (suprimento de precursores lipídicos) e também modificando o metabolismo de proteínas (suprimento de aminoácidos) (4).

O incremento na produção de leite tem sido amplamente descrito na literatura e pode variar de 5% a 40% em vacas (10) porém, os resultados da influência da aplicação da rbST em búfalas, ainda apresentam discordâncias, enquanto alguns estudos mostram efeito positivo (23) outros indicam não fazer efeito (24, 25).

A resposta a rbST varia consideravelmente dependendo da espécie, modalidade de tratamento, estágio de lactação e nutrição animal (19). Dessa forma, o não incremento significativo na produção de leite nas búfalas em alguns experimentos, pode estar associado a alguns fatores como o estágio da lactação em que o rbST foi aplicado e, sobretudo ao manejo nutricional (1).

## 2.2.2 A somatotropina recombinante bovina e os constituintes do leite de búfalas

A composição do leite é um fator de grande relevância à indústria, seja por seu melhor aproveitamento industrial, seja pelo pagamento dado ao produtor. O teor de nutrientes do leite, principalmente gordura e proteína, é resultado do somatório de vários fatores relacionados à produção que devem ser compreendidos a fim de melhorar a qualidade do leite produzido (26).

Alguns componentes do leite, como as proteínas e os ácidos graxos, originam se, em pequena parte, do plasma sanguíneo em condição pré-formada, sendo a maior proporção sintetizada na glândula mamária a partir de precursores. As vitaminas e os minerais são obtidos diretamente do plasma sanguíneo, enquanto a lactose é sintetizada exclusivamente na glândula mamária (27).

Do ponto de vista físico-químico, o leite de búfalas apresenta teor médio de gordura entre 3,56 a 4,25 g/dL, proteína entre 3,97 a 4,50 g/dL, lactose entre 4,81 a 5,11 g/dL, sólidos totais entre 13,88 a 14,55 g/dL, pH entre 6,85 a 6,90 e número de células somáticas entre 26000 a 29000 podendo variar conforme o período de lactação, a raça e a alimentação, entre outros fatores (28).

Alguns estudos têm sido realizados para verificar a influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina sobre os constituintes do leite de búfalas (5, 6, 25), no entanto, os efeitos da rbST sobre a produção e composição do leite, assim como o comportamento da curva de lactação em búfalas ainda são muito variáveis e controversos, principalmente quando comparados com os efeitos bem conhecidos nas vacas. Enquanto algumas pesquisas não verificaram alteração nos constituintes lácteos de bubalinos (25) outras indicam que a administração desse hormônio pode influenciar os teores de gordura (29), proteína (5, 6, 29) e lactose (6, 23, 29).

As alterações na composição do leite de vacas leiteiras tratadas com rbST podem ser limitadas e, geralmente, refletem seu estado nutricional (4). Segundo Ferreira *et al.* (30), o não efeito da administração da rbST nos níveis de gordura láctea pode estar associado ao status energético do animal, pois animais em balanço energético positivo (BEP) não tiveram alteração na porcentagem de gordura do leite. Diferentemente daqueles em balanço energético negativo, que tiveram aumento da gordura do leite, pois um dos precursores desse constituinte do leite (ácidos graxos de cadeia longa) é oriundo dos lipídios circulantes no sangue, derivado da dieta e do tecido adiposo mobilizado pelo rbST (31).

Estudos de Feckinghaus (5) e Shahid *et al.* (29) mostraram que a proteína láctea de búfalas foi influenciada negativamente com a administração de somatotropina bovina. Essa diminuição se dá pelo balanço negativo de nitrogênio, e como a administração de rbST acentua esse quadro de balanço energético no início do tratamento, em virtude do aumento da produção de leite e do baixo consumo de alimentos, a diminuição da proteína láctea pode ocorrer. Outro motivo pelo qual a proteína no leite tende a diminuir é o fato de que parte dos aminoácidos é usada como substrato glicogênico para produção de energia, quando as vacas estão em substancial déficit energético (1).

A dosagem da rbST também pode influenciar as respostas na composição do leite, fato que é evidenciado por Santos *et al.* (1) os quais trabalhando com aplicação de diferentes doses de rbST (0 mg, 250 mg, 350 mg e 500 mg) em vacas multíparas da raça Holandesa, verificaram que a produção de gordura foi maior ( $P < 0,05$ ) no tratamento com 350 mg, sendo essa diferença de 29,1% em relação ao grupo controle. Entretanto, a concentração da proteína total diminuiu ( $P < 0,05$ ) com a aplicação de rbST sem afetar a qualidade nutritiva do leite e a porcentagem de sólidos totais entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ).

Feckinghaus (5) e Melo *et al.* (25) não verificaram alteração nos teores de lactose em função da administração de rbST em búfalas leiteiras. Todavia, estes resultados são discordantes das observações de Prasad & Singh (6), que descreveram um aumento nos níveis desse componente no leite de búfalas na Índia, recebendo aplicação de rbST (5 mg/animal/dia) por cinco dias consecutivos (21-25 dias pós parto) por via endovenosa. Porém, o aumento nos teores de lactose descritos por estes autores pode estar relacionado com o aumento da glicose plasmática a qual é precursora da lactose, dada a metodologia utilizada.

Pesquisas desenvolvidas por Feckinghaus (5) e Melo *et al.* (25) mostraram que a somatotropina recombinante bovina não alterou a concentração de sólidos totais no leite bubalino. Uma vez que a gordura é o sólido constituinte majoritário do leite de búfalas, qualquer modificação em suas proporções poderá influenciar o teor de sólidos totais do leite (32). No entanto, como a administração de rbST não afetou a concentração de gordura no leite, o teor de sólidos totais também não foi influenciado.

### **2.2.3 A somatotropina recombinante bovina e o metabolismo energético em búfalas leiteiras**

Os metabólitos sanguíneos têm sido utilizados principalmente como auxiliares do diagnóstico clínico, mas a partir do termo perfil metabólico, a bioquímica sanguínea passou a ter maior interesse na avaliação de rebanhos com diferentes índices produtivos e reprodutivos, indicando desequilíbrios nutricionais e metabólicos (33).

Diversos indicadores do estado metabólico têm sido pesquisados nas vacas de alta produção. Dentre os principais metabólitos associados ao balanço energético estão inseridos a glicose, colesterol e triglicérides (34). A glicose é considerada como o mais importante combustível para a oxidação respiratória, sendo vital para funções tais como o metabolismo do cérebro e na lactação. O nível de glicose sanguínea pode indicar falha na homeostase (35).

De acordo com Etherton & Bauman (10) em vacas de alta produção, 60-85% da glicose disponível no organismo é direcionada para a glândula mamária para síntese do leite, sendo que a glicose disponível é oriunda principalmente da gliconeogênese hepática. Estudos têm demonstrado que o aumento da produção leiteira após a administração da rbST em vacas leiteiras está diretamente relacionada ao acréscimo nas necessidades de glicose pela glândula mamária para síntese de lactose (12).

As concentrações de glicose e insulina são aumentadas em resposta ao tratamento com rbST, criando um efeito de resistência à insulina (36). Em estudos, Chaiyabutr *et al.* (37) verificaram que as concentrações de glicose durante a administração de rbST, é um dos fatores que regulam a taxa de produção da lactose. Durante o início da lactação, uma parcela maior de glicose intracelular convertida para metabólitos intermediários nos animais tratados com rbST, foi usada principalmente na biossíntese de lactose quando comparado com os animais do tratamento controle.

Com o uso do rbST, a produção de glicose pelo fígado aumenta, sua oxidação pelos tecidos do corpo e seu uso pela musculatura esquelética diminuem (4, 22). No geral, estas mudanças quantitativamente são suficientes para explicar a glicose extra necessária para a síntese do leite em vacas tratadas com rbST (4). Pesquisas têm mostrado que a captação de



glicose mamária é dependente do aumento da concentração de glicose plasmática durante a administração de rbST (38), enquanto outros trabalhos têm demonstrado não haver diferenças (6). Dessa forma, ainda não há uma consistência de relação à cinética da glicose e a ação do hormônio de crescimento.

Alguns trabalhos indicam que búfalas leiteiras suplementadas com rbST apresentam concentrações de glicose plasmática maior do que nos animais controle (39). Segundo Amorim *et al.* (7) sob efeito do rbST, o transporte de glicose estaria bloqueado para os tecidos periféricos, condição conhecida como diabetogênica, o que resultaria em maior quantidade líquida de glicose na circulação. Entretanto, outros estudos mostram não haver diferença significativa entre os níveis plasmáticos de glicose entre os tratamentos (5, 6).

Os triglicerídeos e principalmente o colesterol, têm sido usados em estudos do metabolismo de lipídios (40). Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídios no plasma, pois correspondem a aproximadamente 30% do total, e possui importantes funções no organismo, tais como fazer parte da estrutura das membranas celulares, como fonte de energética e na síntese de hormônios (35).

Valores elevados de colesterol em animais de alta produção sugerem que este metabólito pode ser um indicador da habilidade da vaca em produzir leite, como reflexo da mobilização lipídica das reservas corporais para lactogênese (41). Em relação aos triglicerídeos, alguns trabalhos indicam uma associação entre esse metabólito com os sólidos totais do leite (42).

Estudos realizados por Campos *et al.* (42) mostraram níveis crescentes de colesterol em vacas leiteiras de alta produção até a 11<sup>a</sup> semana pós parto, este fato está relacionado com a necessidade de precursores para síntese de hormônios esteroides, os quais aumentam com o restabelecimento da atividade reprodutiva (43) e também estão relacionados com a produção de leite e partição de nutrientes durante a lactação, em que ácidos graxos podem incorporar à gordura do leite ou serem utilizados para atender a demanda energética (44).

As concentrações plasmáticas de triglicérides são aumentadas quando o animal está em balanço energético negativo (BEN) para fornecer ácidos graxos como fonte de energia e glicerol como precursor de glicose hepática (35), no entanto os níveis de triglicerídeos obtidos no trabalho de Campos *et al.* (42) em vacas leiteiras, não apresentaram variação em função do balanço energético negativo (BEN), provavelmente em função da densidade energética da ração ter impedido um BEN mais severo.

De acordo com Feckinghaus (5), apesar dos metabólitos sanguíneos de animais suplementados com a rbST ser muito estudado, ainda há poucos estudos que relacionam a concentração plasmática de colesterol e de triglicérides. Em relação a esses estudos, existem resultados discrepantes na literatura, sendo que alguns trabalhos demonstram influência do rbST nos níveis sanguíneos de colesterol e triglicérides em vacas lactantes (6), enquanto outros concluem que os níveis desses metabólitos não são alterados significativamente (17, 45).

Para Vargas *et al.* (45) o fato dos níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol não serem influenciados significativamente pela suplementação do rbST pode estar atrelada ao atendimento das demandas metabólicas da lactação pela dieta.

#### **2.2.4 A somatotropina recombinante bovina e o metabolismo proteico em búfalas leiteiras**

Os metabólitos sanguíneos que apresentam potencial para estimar o metabolismo proteico são proteínas totais, ureia e albumina. A bioquímica das proteínas plasmáticas é de primordial importância na avaliação do estado nutricional, podendo indicar alterações metabólicas e auxiliar no diagnóstico clínico de diversas enfermidades (46). Uma deficiência proteica é indicada por níveis baixos de albumina e ureia, já a falha hepática é demonstrada por níveis baixos de albumina e normais ou altos de uréia, acompanhados de altos níveis de enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina amino transferase (ALP) (47).

O conhecimento dos efeitos da somatotropina sobre o metabolismo de proteínas de animais domésticos é consideravelmente reduzido se comparado com o de carboidratos e lipídios. Os efeitos do rbST elevam o acréscimo de proteína muscular em animais em desenvolvimento, a síntese de proteína no leite durante a lactação e promovem aumento no consumo de alimento, o qual produzirá mais nutrientes e aminoácidos disponíveis para o aumento da produção de leite, reduzindo a necessidade de mobilização de tecidos (2).

De acordo com Renaville *et al.* (48), o tratamento com rbST estabelece um balanço positivo de nitrogênio, elevando a sua retenção e reduzindo o catabolismo proteico, além disso, a mobilização de proteínas musculares é limitada, uma vez que a somatotropina reduz a oxidação de aminoácidos e a excreção de urinária de nitrogênio, o que explica o incremento da deposição de proteína em animais em crescimento.

Estudos têm sido realizados para verificar a influência da somatotropina recombinante bovina sobre o perfil metabólico de bubalinos (24,49) no entanto, os efeitos desse hormônio sobre o metabolismo proteico de búfalas em lactação ainda são muito variáveis e controversos, principalmente quando comparamos com os efeitos bem estabelecidos em bovinos.

Enquanto algumas pesquisas não verificaram alterações nos teores de proteína total (24,49), albumina e ureia (23) em búfalas e creatinina (50) em vacas em função da administração de rbST outras indicam que a administração desse hormônio pode influenciar o aumento dos níveis de proteína total (24) em bubalinos e diminuição nos teores de ureia plasmática em bovinos (50).

Para aumentar a proteína do leite é necessário aminoácido ou nitrogênio não proteico (NNP). Uma das ações fisiológicas clássicas da somatotropina é a sua habilidade em promover a conservação de nitrogênio. Ela reduz a taxa de renovação da proteína muscular e a oxidação de aminoácidos para produção de energia, de modo que existam mais aminoácidos disponíveis para a síntese de proteínas do leite e síntese de proteína muscular levando a redução dos níveis séricos de ureia e creatinina (15). Em animais com restrição alimentar, há um aumento na lipólise e degradação proteica provinda de tecido muscular. Isto ocorre na tentativa de manter os níveis de glicose a partir da gliconeogênese, que também utiliza os aminoácidos para a formação de uma nova molécula de glicose (4).

Durante balanço energético negativo, o rbST reduz a oxidação de aminoácidos como fonte de energia nos tecidos, pois isto aumenta a mobilização de lipídios e acentua o metabolismo da glicose, assim, os aminoácidos poderão ser utilizados para o desenvolvimento e crescimento dos demais tecidos e para a síntese de proteínas no leite (51).

Dessa forma, possivelmente a não alteração no metabolismo proteico das búfalas tratadas com rbST em alguns trabalhos se deve ao fato que não houve um acréscimo nas necessidades de aminoácidos para produção de proteína láctea e de energia via gliconeogênese para síntese do leite principalmente por estarem em balanço energético positivo. De acordo com Peel & Bauman (52), o uso desse hormônio em vacas com balanço positivo de nitrogênio (N), não provoca alteração no percentual de proteína do leite. À medida que a produção de leite aumenta, há acréscimo na produção de proteína, entretanto, se houver deficiência em N na dieta, ocorrerá redução no percentual de proteína no leite.

### **2.2.5 A somatotropina recombinante bovina e o metabolismo mineral em búfalas leiteiras**

O metabolismo mineral em bubalinos não é tão conhecido como nos bovinos, há carência de informações sobre o comportamento digestivo e o aproveitamento de minerais nessa espécie (53). Em geral, as deficiências minerais estão associadas a alteração no perfil metabólico, levando à maior parte dos distúrbios no periparto e na imunização (54). O perfil metabólico mineral é representado pelos teores dos principais macroelementos, tais como Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Magnésio (Mg), existindo estreita relação na homeostasia do cálcio

e fósforo. A maior porção do cálcio e fósforo presente no organismo animal está no tecido ósseo e muscular (46).

As exigências desses minerais são aumentadas no periparto para suprir o desenvolvimento do feto; e para a produção de colostro e leite pela vaca, porém, com a diminuição da ingestão de alimentos pelo animal nesse período, alguns minerais sofrem uma queda a níveis abaixo do fisiológico em suas concentrações no final de gestação e início da lactação (55) e, dessa forma, as vacas podem apresentar quadros de hipocalcemia, hipomagnesemia e hipofosfatemia (56). Devido à mobilização mais intensa de cálcio pela glândula mamária, até as oito primeiras semanas de lactação, é comum a diminuição dos níveis séricos desse mineral (57).

Em virtude do potencial aumento da produção de leite de animais ruminantes pelo uso da somatotropina recombinante bovina (10,23) alguns estudos têm sido realizados para verificar a influência desse hormônio sobre o perfil metabólico de bovinos (18, 58) e bubalinos (24). No entanto, apesar dos metabólitos sanguíneos de animais suplementados com a rbST ser muito estudado, ainda há poucas pesquisas que relacionam a concentração sérica de cálcio, fósforo e magnésio. Em relação a esses estudos, existem resultados discrepantes na literatura, sendo que alguns trabalhos não demonstram influência do rbST nos níveis sanguíneos desses minerais (58), enquanto outros concluem que os níveis de cálcio e fósforo (50) sofrem alterações.

Para manter uma concentração constante de cálcio, apesar das variações na ingestão e excreção, mecanismos endócrinos de controle estão presentes nos animais. Além dos papéis diretos do paratormônio (PTH), da calcitonina (CT), e da vitamina D, frequentemente enfatizados no controle de cálcio no sangue, outros hormônios, como corticosteroides adrenais, estrógenos, tiroxina, somatotropina e glucagon podem contribuir para a manutenção da homeostasia do cálcio no organismo animal (59).

De acordo com Bauman & Vernon (18), a somatotropina (ST) não altera a absorção e metabolismo dos minerais. A elevação na produção de leite com o uso de rbST sem reflexos na sua composição mineral, indica que esse hormônio exerce efeitos na partição ou absorção dos minerais pelo organismo. No entanto, contrapõem-se a assertiva de Peel & Bauman (52) quando relatam que ocorrem mudanças na absorção e mobilização de minerais no organismo, ao se utilizar rbST, observando-se maior absorção e ou mobilização de Ca e P e outros minerais requeridos para a produção de leite.

### **2.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Apesar do uso da somatotropina recombinante bovina possuir efeitos positivos na produção de leite bovino, ainda há poucas pesquisas que relacionam o efeito desse hormônio em bubalinos. Em relação a esses estudos, ainda existem resultados discrepantes na literatura, sendo que alguns trabalhos não demonstram influência do rbST no desempenho produtivo e constituintes bioquímicos de búfalas leiteiras enquanto outros concluem que ele contribui para o incremento da produção de leite e alteração nos constituintes lácteos e metabolismo energético, proteico e mineral desses animais.

Fatores intrínsecos do animal como espécie, estágio de lactação e status nutricional além da dose e frequência de aplicação podem interferir nas respostas produtivas em função da administração da somatotropina.

## REFERÊNCIAS

1. Santos RA, Teixeira J, Abreu LR, Muniz JA, Deresz F. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rBST) na produção e composição do leite. *Ciênc. Agrotec.* 2001; 25: 1435-45.
2. Rodrigues M. Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a Produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa. [Dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo;2008.
3. Pivato I. Aspiração Folicular em Bovinos-Efeito do bST. In: *Anais do Workshop de Reprodução Animal*,2005; 02:61-76.
4. Bauman DE. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J.Dairy Sci.* 1992; 75: 3432-51.
5. Feckingham MA. Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.
6. Prasad J, Singh M. Milk production and hormonal changes in Murrah buffaloes administered recombinant bovine somatotropin (rBST). *Agric. Biol. J. N. Am.* 2010; 1: 1325-7.
7. Rennó Neto BP. Influencia da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) na função hepática, renal e no lipidograma de bovinos da raça holandesa em lactação. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2004.
8. Kozicki LE, Segui MS, Fantini Filho JC, Prado FRA, MATTE F, Glaser Júnior P, Weiss RR. A somatotropina bovina (bst) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. *Arch. vet. sci.*2005; 10:35-44.
9. Enright WJ, Prendiville DJ, Spicer LJ, Stricker PR, Moloney AP, Mowles TF, Campbell RM. Effects of growth hormone-releasing factor and thyrotropin-releasing hormone on growth, feed efficiency, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites in beef heifers. *J Anim Sci.* 1993; 71: 2395-2405.
10. Etherton TD, Bauman DE. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol. Rev.* 1998; 78:745–61.
11. Collier RJ, Byatt JC, Denham SC, Eppard PJ, Fabellar AC, Hintz RL, Mcgrath MF, Mclaughlin CL, Shearer JK., Veenhuizen JJ, Vicini JL. Effects of sustained release bovine somatotropina (sometribove) on animal health in commercial dairy herds. *J.Dairy Sci.* 2001; 84:1098–1108.
12. Bauman DE. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to comercial application. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999; 17: 101-16.
13. Centner TJ, Lathrop KW. Regulating the sale of products from cows treated with recombinant bovine somatotropin. *choices.*1996; 4: 34–6.
14. Putnam DE, Varga GA, Green MH. Glucose kinetic responses to protein supplementation and exogenous somatotropin in late gestation dairy cows. *J.Dairy Sci.* 1999; 82:1274-81.
15. Rangel AHN, Divino MR, Leonel FP, Lima Júnior DM. Somatotropina na pecuária de leite. *Pubvet.* 2008; 2:1-18.
16. Mattos W. Somatotropina na pecuária de leite e de corte. In: *Anais da 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*; 1998, Botucatu. Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia; 1998. p.35-52.

17. Prado in, nascimento wg, negrão ja, rigolon lp, schiller ss, sakuno mld, pessini GL. Somatotropina bovina recombinante (rBST) nos aspectos hematológicos e metabólitos do sangue de novilhas (½ Nelore x ½ Red Angus) em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2003; 32:465-72.
18. Bauman DE, Vernon RG. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annu. Rev. Nutr.* 1993; 13: 437-61.
19. Baldi A. Manipulating of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999; 17: 131-7.
20. Bauman DE, Eppard PJ, De Geeter MJ, Lanza GM. Responses of high producing dairy cows to long term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. *J.Dairy Sci.* 1985; 68:1352-62.
21. Herrera MAT, Puente EOR, Calderón AC, Reyes LA, John TH. Efectos de la inyección de somatotropina bovina sobre la producción y composición de la leche de vacas Holstein en lactancia muy tardía. *Biotecnica*. 2009; 11:34-41.
22. Burton JL, McBride BW, Block E, Glimm DR, Kennelly JJC. A review of bovine growth hormone. *Can. J. Anim. Sci.* v.74, p.167-201, 1994.
23. Helal FIS, Lasheen MA. The productive performance of egyptian dairy buffaloes receiving biosynthetic bovine somatotropin (rbST) with or without monensin. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 2008; 3:771-7.
24. Jabbar MA, Ahmad I, Javid S, Chaudhry MA, Usmani RH. Effect of bovine somatotropic hormone on the productive performance of Nili-Ravi buffaloes. *Italian J Anim Sci.* 2007; 6:1039-42.
25. Melo WO, Viana RB, Monteiro BM, Chaves LCS, Santos ERD, Souza DC, Nascimento Junior AS, Amorim BS, Leao AP, Campello CC, Bragança GM, Faria Junior SP. Produção e composição do leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina no pico de lactação. *Acta Vet. Brasilica*. 2013; 7:218-28.
26. Fernandez VNV, Zanela MB. Desequilíbrio nutricional e composição do leite em uma unidade de produção situada na bacia leiteira central da Argentina. *Acta Sci. Vet.* 2007; 35: 363-6.
27. Walstra P, Geurts TJ, Noomen A, Jellema A, Van Boekel MAJS. *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p.
28. Bastos PAS. Constituição físico-química, celular e microbiológica do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no Estado de São Paulo [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo; 2004.
29. Shahid R, Qureshi ZI, Lodhi LA, Rahman ZU. Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) and oxytocin on health biomarkers, reproductive performance and milk composition of nili-ravi buffaloes (*Bubalus bubalis*) during spring and summer seasons. *Pak. J. Agri. Sci.* 2016; 53:985-90.
30. Ferreira AT, Souza JC, Pereira MN, Pérez JRO, Rocha GP. Influência da somatotropina bovina recombinante (rbst), aplicada um dia após o parto, sobre a produção de vacas da raça holandês primíparas. *Ciênc. Agrotec.* 2002; 26: 1568-74.
31. Stelwagen K, Grieve DG, McBride BW, Rehman JD. Growth and subsequent lactation in primigravid Holsteins heifers after prepartum bovine somatotropin treatment. *J.Dairy Sci.* 1992;75:463-71.
32. Cerón-Muñoz MF, Tonhati M, Duarte J. et al. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J.Dairy Sci.* 2002; 85: 2885- 9.

33. Peixoto L, Osório MTM. Perfil metabólico protéico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. *Rev. Bras. de Agrociência*. 2007;13: 299-304.
34. Lago EP, Costa APD, Pires AV, Susin I, Farías VP, Do Lago LA. Parâmetros metabólicos em vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2004; 11: 98-103.
35. Gonzalez FHD, Sheffer JFS. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: *Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais*. Anais do 29º Congresso de Medicina Veterinária; 2002, Gramado. 2002.p.73-88.
36. Breier BH. Regulation of protein and energy metabolism by the somatotropic axis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999; 17:209-18.
37. Chaiyabutr N, Thammacharoen S, Komolvanich S, Chanpongsang S. Effects of long-term administration of recombinant bovine somatotropin on the concentration of metabolites in milk in different stages of lactation in crossbred Holstein cattle. *J. Anim. Sci.* 2008; 79: 41–50.
38. Sandles LD, Sun YX, D’Cruz AGC, McDowell G.H, Gooden JM. Responses of lactating ewes to exogenous growth hormone: short and long-term effects on productivity and tissue utilization of key metabolites. *Aust J Biol Sci.* 1988; 41:357–70.
39. Khaliq T, Rahman ZU, JAVED I. High dose of recombinant bovine somatotropin do alter serum biochemical and hormonal profiles of Nili Ravi buffaloes. *Pak Vet J.* 2013; 33: 476-80.
40. Reist M, Erdin DK, Voneuw D, Tschuemperlin K, Leuenberger H, Chilliard Y, Hammon HM, Morel C, Philipona C, Zbinden Y, Kuenzi N, Blum JW. Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J.Dairy Sci.* 2002; 85:3314-27.
41. Gonzalez FHD, Rocha JA. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. Porto Alegre: *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, 1998. 26:52-64.
42. Campos R, González F, Coldebella A, Lacerda L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. *Cienc. Anim. Bras.* 2007;8: 241-9.
43. Holtenius K, Agenas S, Delavaud C, Chilliard Y. Effect of feeding intensity during the dry period. 2. metabolic and hormonal responses. *J.Dairy Sci.* 2003; 86:883-91.
44. Ruas JRM, Torres CAA, Borges LE, Marcatti Neto A, Machado GV. Efeito da suplementação proteica a pasto sobre eficiência reprodutiva e concentrações sanguíneas de colesterol, glicose e uréia, em vacas Nelore. *Rev. Bras. Zootec.* 2000; 29: 2043-50.
45. Vargas A, Osorio CA, Loaiza J, Villa NA, Ceballos A. Efecto del uso de una somatotropina bovina recombinante (STbr) en vacas lecheras a pastoreo bajo condiciones tropicales. *Arch. Med. Vet.* 2006; 38:33-38.
46. Nascimento JCS, Silva TGP, Rizzo H, Fonseca Filho LB, Soares LLS, Souza WMA, Amorim MJAAL. Indicadores bioquímicos e corporais para avaliação do perfil metabólico e nutricional em ruminantes. *Ciênc. Vet. Tróp.* 2016; 19: 63- 74.
47. González FHD. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. Porto Alegre: *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, 25, n.2, 1997.
48. Renaville R., Hammadi M, Portetelle D. Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism. *Dom. Anim. Endocrinol.* 2002;23: 351-60.

49. Kachiwal AB, Sheikh BA, Sheikh SA, Qureshi TA, Memon KH. Effect of rbST on Serum Biochemical Values During Various Physiological and Weather Conditions in Kundhi Buffaloes. *J. Buffalo Sci.* 2015; 4: 1-9.
50. Abdelrahman AH, Khalil AS, El-Hamamsy HT, Ezzo OH. The Effect of Recombinant Bovine Somatotropin Administration on Milk Production, Some Hemato-Biochemical Parameters and Reproductive Performance of Lactating Cows. *Global Veterinaria.* 2010; 4: 366-73.
51. Gülay MS, Hatipoglu FS. Use of Bovine Somatotropin in the Management of Transition Dairy Cows. *Turk J Vet Anim Sci.* 2005; 29: 571-80.
52. Peel CJ, Bauman DE. Somatotropin and lactation. *J.Dairy Sci.* 1987; 70:474-486.
53. Souza NH, Franzolin R, Soares WVB. Metabolismo mineral em bubalinos com ingestões de diferentes níveis de fósforo. *R. Bras. Zootec.* 2009;38: 1149-54.
54. Mandali GC, Patel PR, Dhami AJ, Rawal SK, Christi KS. Biochemical profile in buffaloes with periparturient reproductive and metabolic disorders. *Indian J. Anim. Reprod.* 2002; 23:130-4.
55. Goff JP. Minerais. In: Reece OW. *Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos.* 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.532-540.
56. Moreira TF, Zambrano JU, Paula VM, Casagrande FP, Facury Filho EJ, Molina LR, Leme FOP, Carvalho AU. Perfil mineral de vacas mestiças Girolanda no período de transição em sistema semi-intensivo em duas estações do ano. *Pesq. Vet. Bras.* 2015; 35:249-57.
57. González FHD, Corrêa MN, Silva SCD. *Transtornos metabólicos nos animais domésticos.* 2ª. Porto Alegre, Brasil: UFRGS, 2014. p.337.
58. Deshmukhi BT, Nagvekar AS, Talvelkarj BA, Dalvi SH, Chinchkar SR. Effect of bovine somatotropin on blood serum minerals, thyroid hormones and reproductive performance of lactating crossbred cows *Indian J. Anim. Sci.* 2001; 71: 663-6.
59. Rosol TJ, Capen CC. Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 5ª ed. Academic Press, 1997. p. 619-702.

## **CAPÍTULO II**

**Artigo original**

**3 ULTRASOUND SPECTROSCOPY AS AN ALTERNATIVE METHOD TO MEASURE THE PHYSICAL-CHEMICAL CONSTITUENTS OF BUFFALO MILK**



### 3 Ultrasound spectroscopy as an alternative method to measure the physical-chemical constituents of buffalo milk<sup>2\*</sup>

#### Espectroscopia de ultrassom como método alternativo para a determinação das características físico-químicas do leite de búfalas

#### ABSTRACT

This study aimed to use ultrasound spectroscopy for the determination of the physical-chemical characteristics of buffalo milk and compare it to the infrared method. Levels of fat, protein, lactose and non-fat solids (NFS) were determined in milk samples of 22 buffaloes (n = 383) with initial milk production of  $6.97 \pm 1.55$  litres. The respective average results for the fat, protein, lactose and NFS of the individual samples were 6.31%, 3.81%, 4.99% and 9.75% for the infrared method-PO ANA 009 and 7.16%, 2.5%, 6.28% and 9.41% using ultrasound spectroscopy. There were significant differences ( $P < 0.0001$ ) in the levels of all of the components analysed between the two methods studied. Results obtained in the analyses using the ultrasonic milk analyser (Ekomilk Total<sup>®</sup>) were different from those obtained by the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ), but they showed a high positive correlation for fat ( $r = 0.84108$ ,  $P < 0.0001$ ), moderate correlation for NFS ( $r = 0.71284$ ,  $P = 0.0022$ ), low correlation for lactose ( $r = 0.32197$ ;  $P < 0.0001$ ) and the absence of correlation for protein ( $r = -0.00284$ ,  $P < 0.0001$ ). Therefore, ultrasound spectroscopy can be used for the determination of fat. For the other constituents of buffalo milk, in order to use the ultrasonic analyser, it is suggested that further studies should be conducted for technical and methodological adjustments.

**Keywords:** buffaloes, milk composition, fat, protein, infrared

---

<sup>2</sup> Este capítulo segue as normas da revista Ciência Rural. \*Artigo publicado

## RESUMO

Objetivou-se com este trabalho o uso da espectroscopia de ultrassom para a determinação das características físico-químicas do leite de búfalas frente ao método infravermelho. As características de gordura, proteína, lactose e estrato seco desengordurado (ESD) foram determinadas em amostras de leite de 22 búfalas (n=383) com produção inicial de leite  $6,97 \pm 1,55$  litros. A média dos resultados para gordura, proteína, lactose e ESD das amostras individuais foram, respectivamente, 6,31%, 3,81%, 4,99% e 9,75% para o método infravermelho-PO ANA 009 e 7,16%, 2,5%, 6,28% e 9,41%, usando-se espectroscopia de ultrassom. Houve diferença significativa ( $P < 0,0001$ ) entre os teores de todos os componentes analisados entre os dois métodos estudados. Os resultados obtidos nas análises com o método utilizando analisador ultrassônico de leite (Ekomilk Total<sup>®</sup>) foram diferentes daqueles feitos por infravermelho-PO ANA 009 (ESALQ), porém, apresentaram correlação positiva alta para gordura ( $r = 0,84108$ ;  $P < 0,0001$ ), moderada para ESD ( $r = 0,71284$ ;  $P = 0,0022$ ), baixa para lactose ( $r = 0,32197$ ;  $P < 0,0001$ ) e ausente para proteína ( $r = -0,00284$ ;  $P < 0,0001$ ), podendo, portanto, ser utilizado para determinação de gordura. Para os demais constituintes do leite de búfalas sugere-se, que para a utilização do analisador ultrassônico, mais estudos para ajustes técnicos e metodológicos sejam feitos.

**Palavras-chave:** Bubalinos, composição do leite, gordura, proteína, infravermelho

## 3.1 INTRODUCTION

The quality of milk can be determined by physical, chemical, microbiological and sensory analyses as well as hygiene tests. For this purpose, there are several official methods available, as determined by the current legislation, which are performed by the Brazilian Network of Laboratories for Milk Quality Control. Such methods include the infrared method-PO ANA 009 (BRASIL, 2006). Although, easy to carry out, official tests often require specific

forms of preservation and expensive analytical reagents and can be time consuming depending on the distance between the farm and the accredited laboratory (GONÇALVES, 2014).

A method that is increasingly applied in the industry for the analysis and modification of food is ultrasound spectroscopy, which is based on the principle of sound absorption changing the frequency of the sample particles. It presents advantages over the traditional methods as it precludes the need for the preparation of the samples, uses minimum volumes of the samples in a non-destructive way, precluding the need to use specific chemical reagents or glassware and produces results in only a few minutes (PONSANO et al., 2007). It has already been demonstrated in cattle that it is possible to determine the constituents of milk, both at the farm and at the dairy fair, allowing problems to be solved that require an immediate decision or to define the industrial destination of raw material (PINTO et al., 2008).

Despite the advantages of ultrasound spectroscopy as an alternative technique for the evaluation of milk constituents, it is worth mentioning that both the calibration tests of the devices and the comparative studies between the techniques were performed only using bovine milk (PONSANO et al., 2007; PINTO et al., 2008), and there is no study in the literature comparing them in buffalo milk, which has a different composition from that of bovine milk (AMARAL et al., 2005). Thus, the need for studies to develop automated analytical procedures, which are quick, accurate and of lower cost, for the analysis of the constituents of buffalo milk is evident.

Therefore, the aim of the present study was to compare the physical-chemical parameters of buffalo milk obtained by the infrared method-PO ANA 009 as well as an ultrasonic milk analyser (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) and to identify which buffalo milk constituents may be determined using ultrasound spectroscopy.

### 3.2 MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted at a farm located in the municipality of Mojú (1°54'14.33"S; 48°46'07.53"W), a mesoregion of the northeastern region of Pará state, Brazil. The climate of the region is characterized as Am (hot and humid) according to the Köppen-Geiger climate classification, with an annual average temperature between 25 and 27°C and annual precipitation between 2,000 and 3,000 mm/m<sup>2</sup> with an irregular distribution. The relative air humidity is approximately of 85% (SILVA et al., 2001).

Individual milk samples were collected for 11 weeks (n = 383) from 22 adult buffaloes of similar genetic groups, mostly Murrah (*Bubalus bubalis*) or crossbred (with genetic predominance of the Murrah breed) lactating buffaloes. All buffaloes were multiparous with a mean of 66 ± 1.74 days in lactation (DIL) and a production of 6.97 ± 1.55 litres of milk per day at the beginning of the study. Animals were kept under a rotational stocking system on *Urochloa (Brachiaria) humidicola*, *Urochloa (Brachiaria) brizantha* and *Panicum maximum* cv. Mombasa pastures, receiving water and mineral salt *ad libitum*. In addition to pastures, the lactating buffaloes received 1.0kg of feed/day, composed of 30.61% murumuru cake (*Astrocaryum murumuru*), 61.29% maize meal (*Zea mays*), 3.1% mineral mix and 5% urea. The bromatological composition of the diet was 93.02% dry matter (DM), 8.41% mineral matter (%), 18.17% crude protein (CP), 3.15% ether extract (EE), 23.9% neutral detergent fibre (NDF) and 10.96% acid detergent fibre (FDA), with results obtained using the methodology described by SILVA & QUEIROZ (2002).

The buffaloes were milked manually twice a day with an average interval of 12 hours between milking. The control of milk production was carried out weekly, with complete emptying of the udder 12 hours before at the intervals of 63-70; 70-77; 77-84; 84-91; 91-98; 98-105; 105-112; 112-119; 119-126; 133-140; and 147-154 days in lactation. On the same day of the milk control, always at the end of each milking and after the homogenization of the total

milk, the samples were collected to determine the physical-chemical composition of the milk for the comparison between the analysis methods.

Of the total milked milk, aliquots of the sample were placed in sterile (labelled) 50 mL vials containing microtablets of bronopol-based preservatives and stored in thermal boxes containing ice packs. Samples were then sent to the Luís de Queiroz College of Agriculture (ESALQ/USP), in Piracicaba-São Paulo State, accredited by the Brazilian Network for Milk Quality Control of the Ministry of Livestock and Food Supply (RBQL/MAPA), for the determination of fat, protein, lactose and non-fat solids (NFS) by the infrared method-PO ANA 009 according to the collection, preservation and evaluation recommendations of the laboratory.

Other aliquots of the milk sample were placed in sterile (labelled) preservative-free 75 mL bottles and stored in thermal boxes containing ice packs. Within a maximum of 24 hours, these samples were analysed in the food analysis laboratory of the Federal Rural University of the Amazon-Ufra (Belém-Pará state) for the determination of fat, protein, lactose and NFS using ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) following the manufacturer's recommendations.

The descriptive statistics of the data, represented by the means, standard error of the means (SEMs) and the minimum as well as maximum values for each variable were obtained through the *MEANS* procedure of SAS version 9.3 (SAS/STAT, SAS Institute Inc., Cary, NC). Comparison between the means of the groups was performed by analysis of variance (ANOVA) using the *LS Means (Least Square Means)/PDIF ILINK LINES* command from SAS. To assess the correlation between the variables analysed by infrared method-PO ANA 009 and ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria), the *CORR RANK* procedure from SAS was used.

To estimate the milk constituents, such as fat, protein, lactose and NFS, the infrared method-OP ANA 009 (ESALQ) and the ultrasonic analyser (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading

LLC, Bulgaria) were used. The data were tested by means of regression analysis with the *GLM* procedure from SAS, using the least squares method for simple non-polynomial regression. For the calculation of the regressions and Pearson's correlations, the coefficients of determination ( $R^2$ ) of  $\geq 0.70$ ,  $\geq 0.50$  and  $<0.50$  as well as correlation coefficients of ( $r$ )  $\geq 0.80$ ,  $\geq 0.70$  and  $<0.70$  were considered high, moderate and low, respectively. The  $P$  value was considered significant when  $\leq 0.05$ .

### 3.3 RESULTS AND DISCUSSION

The mean, standard error and minimum and maximum values obtained for the buffalo milk constituents by the different methods are presented in Table 1. Additionally, using the infrared method-PO ANA 009 of the Milk Clinic-ESALQ/USP, NERES et al. (2013) reported mean values of  $6.9 \pm 1.5\%$  fat,  $5.1 \pm 0.3\%$  protein,  $5.0 \pm 0.4\%$  lactose and  $10.9 \pm 0.8\%$  NFS, while LIMA et al. (2014) observed mean values of  $5.44\%$  fat,  $4.24\%$  protein and  $4.77\%$  lactose in buffalo milk. Thus, the lower level of milk protein obtained in the present study was the only variable that did not present similar behaviour to the studies by NERES et al. (2013) and LIMA et al. (2014).

In relation to the results obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK), in the present study, the mean values were different from those reported by PESSOA et al. (2011) in buffaloes, in which mean values of  $5.4 \pm 2.1\%$  fat,  $5.2 \pm 0.3\%$  protein,  $5.1 \pm 0.6\%$  lactose and  $11.1 \pm 1.0\%$  NFS were found.

Differences in milk composition are caused by the effects of environmental factors, such as the season and nutrition, as well as animal-related factors, such as the breed, age and lactation stage (AMARAL et al., 2005). Milk components (fat, protein, lactose and NFS) may vary according to the nutrition, season and animal-related effects, such as the age, breed and stage

of lactation (DAMÉ et al., 2011), which explains the differences observed between some of the buffalo milk constituents in several studies.

There were significant differences between the levels of fat, protein, lactose and NFS ( $P < 0.0001$ ) for the ultrasound spectroscopy analysis compared to the infrared method used by reference laboratories (RBQL/MAPA). In a similar research; however, with milk samples from nine Holstein cows, PINTO et al. (2008) reported significant differences between the levels of fat ( $P = 0.0001$ ) and NFS ( $P = 0.0001$ ) when comparing the ultrasonic and infrared methods but without any differences for the protein content ( $P = 0.1782$ ). According to the authors, the differences between the fat and NFS levels of the milk found between the two methods used are possibly due to differences in the calibration of the two devices.

The correlation results between the fat, protein, lactose and NFS of buffalo milk obtained by ultrasound spectroscopy compared with the infrared method are presented in Table 2. Figure 1 shows the dispersion, regression equation and respective coefficient of determination for the fat, protein, lactose and NFS percentages obtained by the infrared method-PO ANA 009 or ultrasonic milk analyser (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria). In a similar study, PINTO et al. (2008) reported a positive and significant correlation for the levels of fat ( $r = 0.98$ ,  $P = 0.0001$ ) and NFS ( $r = 0.85$ ,  $P = 0.0041$ ) obtained with the two methods studied. However, unlike the results of the present study, these authors reported a positive correlation for the protein level ( $r = 0.83$ ,  $P = 0.0051$ ).

A high correlation coefficient was reported only for the fat concentration, and a moderate correlation was found for the NFS portion between the two evaluated methods, unlike some studies (PINTO et al., 2007; SILVEIRA et al., 2004) that compared the ultrasonic analyser with other methods of milk analysis. The results obtained in the analyses using the ultrasonic milk analyser (Ekomilk Total<sup>®</sup>) were different from those obtained by infrared method-PO ANA 009 (ESALQ) but showed a high positive correlation for fat ( $r = 0.84108$ ,  $P < 0, 0001$ ), a

moderate correlation for NFS ( $r= 0.71284$   $P = 0.0022$ ), a low correlation for lactose ( $r= 0.32197$ ;  $P < 0.0001$ ) and the absence of correlation for protein ( $r= -0.00284$ ,  $P < 0.0001$ ); and therefore, ultrasound spectroscopy can be used for fat determination.

The differences between results of the determination of protein, lactose and NFS levels of milk for the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ) and ultrasonic milk analyser (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) is possibly due to differences in calibration between the two devices, use of preservatives and time between the collection and samples analysis .

### **3.4 CONCLUSION**

Despite the advantages of ultrasound spectroscopy as an alternative technique for the evaluation of buffalo milk constituents, it is a safe method only for the determination of fat levels. However, for the other constituents, more research is required, as there are still few studies evaluating the influence of the factors that affect buffalo milk analysis on both methods, and technical as well as methodological adjustments such as conservation methods, whether or not to use preservatives, temperature and the time of sample collection and processing are also needed.

### **ETHICS AND BIOSAFETY COMMITTEE**

The experiment was approved by the Ethics Committee on Animal Use of UFRA, Protocol 021/2016 (CEUA)-23084.006670/2016-28 (UFRA), which confirmed that all the requirements of Federal Law 11.794/08 (Arouca Law) were complied with, as were the Ethical Principles of Animal Experimentation of COBEA.



## REFERENCES

- AMARAL, F. R. et al. Buffaloes milk quality: components. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. V.29, n.2, p.106-110, 2005. Available from: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RE022.pdf>> Accessed on 17 jun. 2017.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2006. p. 8.
- DAMÉ, M.C.F. et al. **Produção e Qualidade de Leite de Bubalinos no Rio Grande do Sul: dados preliminares**. Pelotas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado. 2011. 14p. (Documento 296).
- GONÇALVES, A.C.S. **Avaliação dos resultados das contagens de células somáticas obtidas pelo equipamento Ekomilk Scan® e suas correlações com outros métodos de análise**. 2014.35f. Dissertation (Mestrado em Medicina Veterinária) -Universidade Estadual Paulista, Jabotical-SP.
- LIMA, T.C.C.; RANGEL, A.H.N.; MACÊDO, C.S. et al. Composition and quality of milk and whey buffalo in Rio Grande do Norte state. **Acta Veterinaria Brasilica**. v.8, n.1, p.25-30, 2014. Available from: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/3321/5392>> Accessed on 03 de mar. 2017. doi: 10.21708/avb.2014.8.1.3321.
- NERES, L.S. et al. Quality of creamy requeijão cheese of buffalo milk supplemented with byproducts agribusiness, Belem, Para State, Brazil. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**. v. 68, n. 391, p. 24-31, 2013. Available from: <<https://rilct.emnuvens.com.br/rilct/article/view/18/19>> Accessed on 03 de mar. 2017.
- PESSOA, J.S. et al. Physicochemical characteristics of milk during different stages of lactation of water buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers raised on pasture. In REUNIÃO ANUAL DA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 48., 2011, Belém. **Anais...Belém**: [s.n] 2011.p.1-3.

PINTO, A.T. et al. Correlation between infra-red and ultra-sound methods to evaluate milk composition in milk contest at EXPOINTER 2007. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.36, n.3, p. 273-276, 2008. Available from: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/20719/000681368.pdf?sequence=1>> Accessed on 04 de mar.2017.

PONSANO, E.G.H. et al. Correlation between traditional methods and ultrasonic spectroscopy for measurement of milk physical-chemical characteristics . **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.1052-1057, 2007. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v59n4/35.pdf>>Accessed on 02 de fev.2017. doi: 10.1590/S0102-09352007000400035.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C.Q. **Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa, MG, editora UFV, 235p. 2002.

SILVA, S. M. A. S. et al. **Impacto da exploração madeireira em floresta de terra firme no município de Moju, estado do Pará**. In: SILVA, J. N. M; CARVALHO, J. O. P.; YARED, J. A. G. (Eds.). A silvicultura na Amazônia Oriental: contribuições do projeto Embrapa/DFID. Belém: Embrapa Amazônia Oriental - DFID, 2001. p. 227 – 251.

SILVEIRA, T.M.L.et al.. Comparison between standard methods and electronic analyses for measurement of the bovine milk composition. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.782-787, 2004. Available from: <<https://doaj.org/article/656253b2769846e1abbcca7fe03fb5af>>Accessed on 05 de mar.2017. doi: 10.1590/S0102-09352004000600013.

Table 1-Mean values, standard errors of the mean, minimum and maximum values of the production variables and physical-chemical analysis of buffalo milk obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ/USP).

Variables	Mean	SEM	Minimum	Maximum
Number of milk samples			383	
Milk production per day, kg	3.39	0.07	0.10	10.10
<i>Infrared</i>				
Fat%	6.31	0.07	2.31	14.75
Protein%	3.81	0.02	2.58	4.81
Lactose %	4.99	0.01	3.26	5.57
NFS %	9.75	0.02	7.53	10.83
<i>Ultrasound</i>				
Fat%	7.16	0.07	3.10	12.90
Protein%	2.51	0.05	1.52	12.48
Lactose%	6.28	0.02	2.60	7.10
NFS %	9.41	0.02	7.66	10.80

NFS: non-fat solids

Table 2-Correlation coefficients and significance levels between levels of fat, protein, lactose and NFS obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-POANA 009 (ESALQ/USP).

Variables		Variables			
		Fat**	Protein**	Lactose**	NFS**
Fat*	<i>R</i>	0.84108	-0.0152	-0.22730	-0.17666
	<i>P</i>	<0.0001	0.0744	<0.0001	<0.0001
Protein*	<i>R</i>	0.29428	-0.00284	0.26035	0.38036
	<i>P</i>	<0.0001	0.9559	<0.0001	<0.0001
Lactose*	<i>r</i>	-0.15890	0.12280	0.32197	0.42075
	<i>P</i>	<0.0001	0.0165	<0.0001	<0.0001
NFS*	<i>r</i>	0.15649	0.05909	0.42696	0.71284
	<i>P</i>	0.0022	0.2499	<0.0001	<0.0001

P values <0.05 were considered significant. \* Analyses performed by the infrared method-POANA 009 (ESALQ). \*\* Analyses performed using the ultrasonic milk analyser (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria). NFS: non-fat solids.

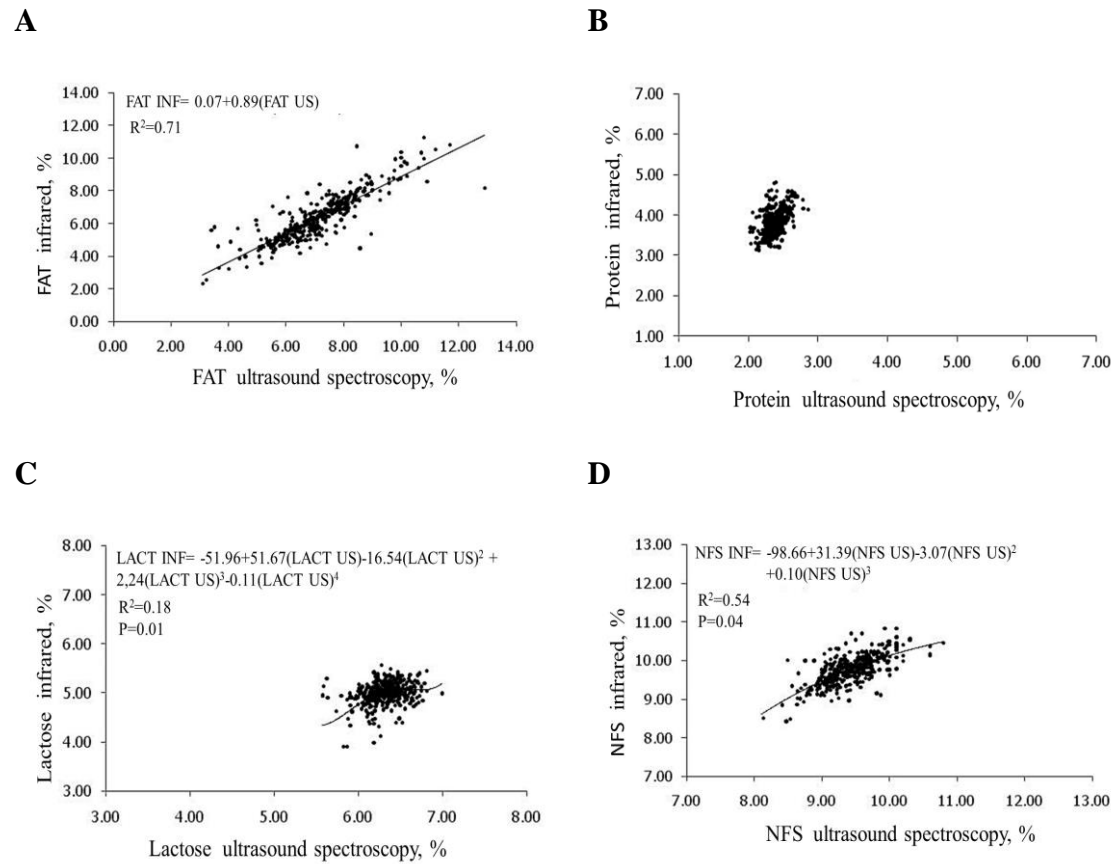


Figure 1–Dispersion diagram, simple non-polynomial regression equation, coefficient of determination ( $R^2$ ) and significance level ( $P$ ) between levels of fat (A), protein (B), lactose (C) and non-fat solids (D) obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ/USP).

## **CAPÍTULO III**

**Artigo original**

### **4 USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA EM BÚFALAS LEITEIRAS I: PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE**

#### 4 Uso da somatotropina recombinante bovina em búfalas leiteiras I: produção e composição físico-química do leite<sup>3\*</sup>

*[Use of recombinant bovine somatotropin (rbST) in dairy buffaloes I: production and physicochemical composition of milk]*

##### RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a produção e constituintes do leite de búfalas entre 63 e 154 em lactação. Foram utilizadas 22 búfalas distribuídas em dois grupos experimentais: Grupo rbST - aplicação de 500 mg de rbST a cada 14 dias; Grupo Controle - sem aplicação de rbST. A cada sete dias, foi aferida a produção de leite de todas as búfalas e colhida uma amostra para análise físico-química. As variáveis produtivas e as oriundas de análises laboratoriais foram avaliadas como medidas repetidas no tempo, utilizando-se o comando *Repeated* gerado pelo procedimento GLM do SAS. A média dos parâmetros estudados para os grupos rbST e Controle foram, respectivamente: produção de leite – 6,54 vs. 6,68 Kg; gordura - 6,31 vs. 6,33%; proteína 3,87 vs. 3,77%; lactose - 4,96 vs. 5,02%; sólidos totais - 16,18 vs. 16,02%; extrato seco desengordurado - 9,76 vs. 9,74%; contagem de células somáticas - 315,75 vs. 170,81 (x 1000/mL); e elecondutividade - 2,89 vs. 2,82 mS/cm. A utilização de 500 mg de rbST administrados quinzenalmente, entre 63 e 154 dias em lactação, não alterou a produção de leite, a proporção dos constituintes e a CCS do leite de búfalas leiteiras.

**Palavras-chave:** Búfalos, hormônio do crescimento, produção de leite, constituintes do leite.

##### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on milk yield and the proportion of buffalo milk components during lactation. Twenty-two buffaloes randomly distributed in two experimental groups were used: Group rbST - application of 500 mg rbST every 14 days, between 63 and 154 days in milk (DIM); Control Group - without treatment. Weekly, the milk yield of buffaloes was measured and a sample was collected for physicochemical analysis. The response variables were evaluated as repeated measures, using the Repeated procedure through the GLM procedure of SAS. Means and SEM of each variable after rbST and Control were: Milk yield - 6.44±0.45 vs. 6.68±0.32 kg; Fat - 7.11±0.14 vs. 7.14±0.11%; Protein - 2.38±0.02 vs. 2.37±0.01%; Lactose - 6.31±0.02 vs. 6.29±0.02%; Milk

---

<sup>3</sup> Este capítulo segue as normas do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. \*Artigo aceito para publicação.

solids -  $16.18 \pm 0.14$  vs.  $16.02 \pm 0.11\%$ ; Defatted dry matter -  $9.39 \pm 0.04$  vs.  $9.41 \pm 0.03\%$ ; and SCC -  $315.75 \pm 56.22$  vs.  $170.81 \pm 25.65$  (x 1000/mL). The use of 500 mg of rbST administered every two weeks, between 63 and 154 days of lactation did not affect milk yield, proportion of milk constituents and SCC of dairy buffaloes.

**Keywords:** Buffalo, growth hormone, milk yield, milk constituents

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O mercado para produtos lácteos de origem bubalina se encontra em crescimento da ordem de 20% ao ano no Brasil, fato que tem levado os produtores a buscar técnicas que aumentem a produção de leite e a proporção de sólidos totais para a industrialização (Gonsalves Neto *et al.*, 2009). Dentre as técnicas disponíveis para melhorar a eficiência e a rentabilidade das propriedades leiteiras está o uso da somatotropina recombinante bovina (rbST), uma biotécnica muito difundida para aumentar a produção de leite e a persistência da lactação de vacas leiteiras de alta produção (Rodrigues, 2008).

Também conhecida como hormônio do crescimento (STH), a somatotropina possui mecanismo de ação que envolve uma série de arranjos metabólicos no tecido animal, direcionando nutrientes para a glândula mamária, caracterizando-se como um excelente coordenador de nutrientes que aumenta a eficiência biológica para síntese de leite (Bauman *et al.*, 1992). Portanto, a administração de rbST contribui para a eficiência da atividade leiteira, promovendo aumentos da produção que variam de 3 a 40%, bem como na persistência da lactação, sem alterações nos teores de gordura, proteína, lactose (Santos *et al.*, 2001) e no número de células somáticas do leite (Tarazon-Herrera *et al.*, 2000; Dohoo *et al.*, 2003; Feckinghaus, 2009).

Alguns estudos têm sido realizados para verificar a influência desse hormônio sobre os constituintes do leite de búfalas (Santos *et al.*, 2001; Jorge *et al.*, 2002; Prasad e Singh, 2010). Entretanto, os efeitos da rbST sobre a produção e composição do leite, assim como o comportamento da curva de lactação em búfalas ainda são muito variáveis e controversos, principalmente quando comparados com os efeitos bem conhecidos nas vacas.

Deste modo, fazem-se necessárias pesquisas que descrevam a ação da rbST em búfalas leiteiras, não somente sobre a produção de leite, mas também a influência desse fármaco sobre os constituintes do leite e a flutuação dos mesmos ao longo da lactação. Assim objetivou-se, com esse estudo, quantificar os efeitos da rbST sobre a produção de leite, os constituintes e o número de células somáticas no leite durante a lactação de búfalas. Hipotetiza-se que a aplicação contínua de rbST ao longo da lactação aumenta a produção de leite das búfalas,



entretanto sem alterar as concentrações dos constituintes e a quantidade de células somáticas do leite.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRA, Protocolo 021/2016 (CEUA) – 23084.006670/2016-28 (UFRA), no qual verificou que foram atendidas todas as exigências da Lei Federal 11.794/08 (Lei Arouca), sendo respeitados os Princípios Éticos da Experimentação Animal do COBEA.

O experimento foi conduzido em uma fazenda localizada no município de Mojú na Mesorregião Nordeste do Estado do Pará. O clima da região onde se localiza a propriedade em estudo é caracterizado como Ami (quente úmido), de acordo com a classificação de Köppen, com temperatura média anual entre 25 e 27°C e precipitação anual entre 2.000 e 3.000 mm/m<sup>2</sup>, com distribuição irregular. A umidade relativa do ar é elevada, com Índice de Umidade Relativa anual média de 77,9% (Azevedo *et al.*, 2011).

Utilizaram-se 22 búfalas adultas de diferentes grupamentos genéticos, em sua maioria matrizes da raça Murrah (*Bubalus bubalis*) ou mestiças com predominância genética Murrah. Todas as búfalas eram multíparas, lactantes com partos eutócicos, com média de 66±1,74 dias em lactação (DEL) e 6,97 ± 1,55 litros de leite por dia, em duas ordenhas diárias. Os animais foram mantidos em sistema de pastejo rotacionado em *Brachiaria (syn. Urochloa) humidicola* (Quicuío da Amazônia), *Brachiaria (syn. Urochloa) brizantha* e *Panicum maximum* cv. Mombaça, recebendo água e sal mineral *ad libitum*. Adicionalmente às pastagens, as búfalas em lactação recebiam o quantitativo de 1 Kg de ração/dia, constituída por 30,61% de torta de murumuru (*Astrocaryum murumuru*), 61,29% de farelo de milho (*Zea mays*), 3,1% de núcleo mineral e 5% de ureia. Realizou-se a análise bromatológica da ração na Universidade Federal Rural da Amazônia, campus de Parauapebas - PA, adotando a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2009) (Tab. 1).

As búfalas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais, de modo que o primeiro grupo foi composto por 11 búfalas que receberam a aplicação de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (Grupo rbST; 2 mL de Boostin – MSD Saúde Animal) a cada 14 dias, por via subcutânea, na fossa ísquio-retal, alternando-se os lados esquerdo e direito a cada aplicação, totalizando sete aplicações, cuja primeira se deu aos 63 dias em lactação e última aos 154 dias em lactação. O segundo grupo foi constituído de 11 búfalas que não receberam aplicação de rbST (Grupo Controle).

**Tabela 1.** Composição bromatológica da ração fornecida para as búfalas leiteiras

<b>Composição bromatológica</b>	
30,61% de torta de murumuru + 61,29% de farelo de milho + 3,1% de núcleo mineral e 5% de ureia	
Matéria seca (%)	93,02
Matéria mineral (%)	8,41
Proteína Bruta (%)	18,17
Extrato etéreo (%)	3,15
Fibra detergente neutro (%)	23,9
Fibra detergente ácido (%)	10,96

Eram ordenhadas manualmente, duas vezes ao dia, com intervalo médio de 12 horas entre as ordenhas. O controle da produção de leite foi realizado semanalmente, com esgota total prévia de 12 horas, nos intervalos 63-70; 77-84; 91-98; 105-112; 119-126; 133-140; e 147- 154 dias em lactação.

A cada sete dias foram colhidas amostras de leite em frascos estéreis (identificados) contendo microtabletes de conservantes a base de bronopol e acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo reciclável. Em seguida, eram encaminhadas à Clínica do Leite/Escola Superior Luís de Queiroz (ESALQ/USP), em Piracicaba-SP, credenciado na Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite, para a determinação dos teores de gordura (% m/m), proteína (% m/m), lactose (% m/m), extrato seco desengordurado (ESD) (% m/m) de sólidos totais (% m/m) avaliadas pelo método infravermelho-PO ANA 009 e contagem de células somáticas (CCS) (x 1000/mL) determinada pelo método de Citometria de fluxo – PO ANA 008.

Também foram colhidas alíquotas de leite em frascos estéreis (identificados) sem conservantes, com capacidade para 75 mL, e acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo reciclável. Em no máximo 24 horas, foram encaminhadas à Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA (Belém-PA) para determinação dos valores de eletrocondutividade (mS/cm) pelo método automatizado do aparelho ultrassônico (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgária), conforme recomendações do fabricante.

A estatística descritiva dos dados, representada pelas médias aritméticas e o desvio padrão (DP) de cada tratamento, foi obtida pelo procedimento *Means* do programa SAS, versão 9.2. As variáveis oriundas de análises laboratoriais foram avaliadas como medidas repetidas no tempo, referentes aos momentos de colheita dos dados (tempo) de acordo com cada tratamento (rbST e controle) e suas interações (tratamento\*tempo), utilizando-se o comando *Repeated* gerado pelo procedimento GLM do SAS. Realizaram-se os testes de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias de cada tempo. Os dados que não

preencheram os pressupostos para a análise de variância (ANOVA) foram transformados em conformidade.

Quando a premissa de esfericidade não foi respeitada ( $P < 0,05$ ), as probabilidades de tempo (P tempo) e das interações dos tratamentos com o tempo (P trat\*tempo) foram corrigidas pelo teste de Greenhouse-Geisse Epsilon. A comparação entre as médias dos grupos dentro de cada tempo (trat/tempo) foi realizada por meio do teste de médias *Least Square Means* (LSMeans) do SAS. Foi utilizado o nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito de tratamento (Controle e rBST) para nenhuma das variáveis estudadas (Tab 2). Em contrapartida, foi observado efeito de tempo de lactação para produção de leite, proteína, lactose, ST, ESD e CCS, assim como efeito de interação (tratamento\*tempo) para produção de leite.

**Tabela 2.** Média e desvio padrão (DP) da produção de leite (Kg), constituintes do leite (% m/m) e contagem de células somáticas (x 1000/mL) no leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle) durante a lactação

	Controle		rBST		P value		
	Média	DP	Média	DP	Tratamento	Tempo	Trat*Tempo
Produção de leite (Kg)	6.68	1.93	6.54	2.38	0,6219	<0,0001	0,0053
Gordura (% m/m)	6.34	1.24	6.31	1.39	0,9341	0,0067	0,6753
Proteína (% m/m)	3.81	0.56	3.86	0.31	0,7956	0,0004	0,8904
Lactose (% m/m)	5.02	0.18	4.96	0.27	0,3439	0,0350	0,1977
Sólidos Totais (% m/m)	16.03	1.22	16.05	1.51	0,8535	0,0007	0,8719
ESD (% m/m)	9.74	0.31	9.75	0.39	0,9280	0,1543	0,7369
CCS (x 1000/mL)	171.68	277.51	329.90	581.55	0,6135	0,0001	0,6666
Eletrocondutividade(mS/cm)	2.81	0.34	2.87	0.37	0,7419	0,0001	0,5553

ESD – extrato seco desengordurado; CCS-Contagem de células somáticas

Percebe-se nos resultados avaliados que não houve um efeito positivo da rbST na produção de leite das búfalas tratadas ( $P > 0,05$ ) (Fig.1; Painel A). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Jabbar *et al.* (2007) que verificaram o efeito do uso prolongado de rbST sobre a produtividade em búfalas da raça Nili-Ravi pluríparas em lactação, distribuídas

em três grupos: animais tratados com 250 mg de rbST com intervalo de 14 dias; 36 mg de rbST em dias alternados; e búfalas controle que não receberam rbST. Os autores não constataram diferença significativa na produção média de leite entre os tratamentos. Em contrapartida, as pesquisas de Jorge *et al.* (2002); Mishra e Shukla (2004); Hedal e Lasheen (2008) descreveram aumentos significativos na produção de leite de búfalas tratadas com rbST.

Mishra e Shukla (2004) observaram aumento de 25% na produção de leite ( $P < 0,001$ ) de búfalas tratadas com três aplicações quinzenais de 250 mg de rbST (Boostin- Chemicals, India Pvt.Ltd), a partir de 60 DEL, com aumento significativo na produção entre a quarta e a sétima semanas, de nove semanas estudadas. Helal e Lasheen (2008) também verificaram o incremento na produção de leite de búfalas que receberam 500 mg de rbST a cada 14 dias no período de 2 semanas antes do parto até 16ª semana de lactação. Por fim, Jorge *et al.* (2002) observaram incremento de 48,5% na produção de leite nas búfalas tratadas com 500 mg de rbST (Boostin – Mallinckrodt Vet. Ltda) a cada 14 dias, durante 7 meses, sendo a primeira aplicação realizada 10 dias antes da data prevista do parto. Dessa forma, verifica-se que a maioria dos trabalhos que indicaram aumento significativo da produção de leite com o uso de rbST em búfalas, diferentemente da presente pesquisa, ressaltando-se que nos referidos estudos a administração de rbST teve início no período pré-parto. Possivelmente essa modalidade de tratamento tenha contribuído na obtenção dos resultados.

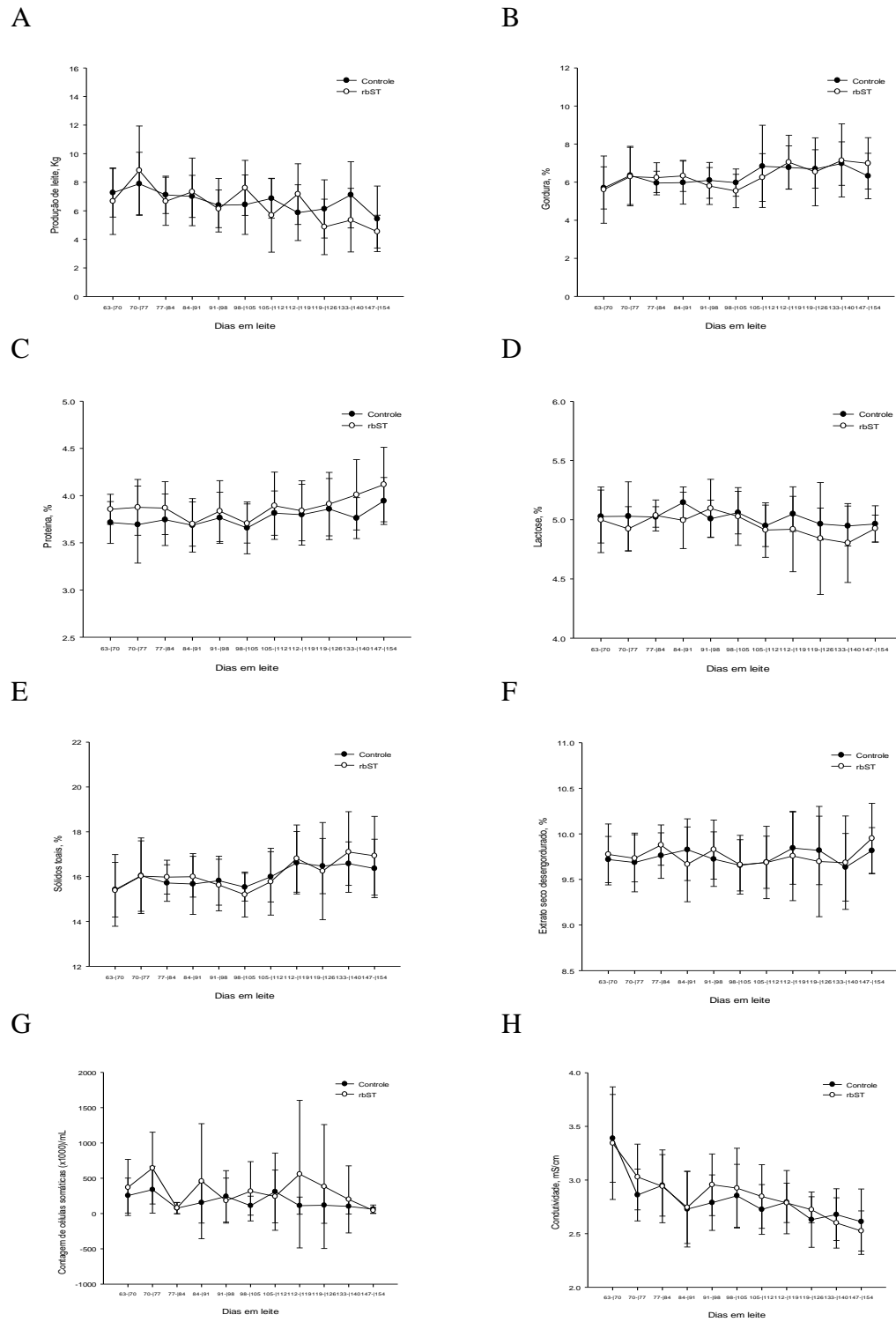
A resposta a rbST varia consideravelmente dependendo da espécie, modalidade de tratamento, estágio de lactação e nutrição animal (Baldi, 1999). Dessa forma, o não incremento significativo na produção de leite nas búfalas do presente experimento, pode estar associado a alguns fatores como o estágio da lactação em que o rbST foi aplicado e, sobretudo ao manejo nutricional, onde o fornecimento de concentrado era feito sem considerar a produção de leite, e isso pode ter induzido a menor resposta ao hormônio, conforme também observou Santos *et al.* (2001).

A concentração de gordura láctea também não foi influenciada pela aplicação da rbST (Fig.1; Painel B). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por outros pesquisados em búfalas (Srinivasa-Rao e Ranganadham, 2000; Helal e Lasheen, 2008; Feckinghaus, 2009; Prasad e Singh, 2010; Melo *et al.*, 2013). Segundo Ferreira *et al.* (2002), o não efeito da administração da rbST nos níveis de gordura láctea pode estar associado ao *status* energético do animal, pois animais em balanço energético positivo (BEP) não tiveram alteração na porcentagem de gordura do leite. Diferentemente daqueles em balanço energético negativo, que tiveram aumento da gordura do leite, pois um dos precursores desse constituinte do leite (ácidos graxos de cadeia longa) é oriundo dos lipídios circulantes no sangue, derivado da dieta e do

tecido adiposo mobilizado pelo rbST (Stelwagen *et al.*, 1992). Dessa forma, sugere-se que as búfalas estudadas na presente pesquisa mantiveram-se em BEP, principalmente no que tange ao balanço de nutrientes entre a produção de leite vs. ingestão de nutrientes.

A concentração média da proteína láctea ao longo do experimento foi de 3,87% no tratamento com rbST e 3,77% no grupo Controle (Fig.1; Painel C), não havendo diferença entre os grupos ( $P > 0,05$ ), corroborando os resultados obtidos por Srinivasa-Rao e Ranganadham (2000), Jorge *et al.* (2002), Helal e Lasheen (2008) e Melo *et al.* (2013) que não encontraram efeito da aplicação de rbST sobre a concentração de proteína no leite de búfalas. Entretanto, outros estudos verificaram que a proteína láctea em búfalas é influenciada pela administração da rbST (Prasad e Singh, 2010; Feckinghaus, 2009), diminuindo seus valores de acordo com as aplicações de rbST. O quadro de diminuição da proteína no leite pode ser consequência do balanço negativo de nitrogênio. Quando a rbST acentua o quadro de catabolismo, a diminuição da proteína láctea pode ocorrer se houver algum aumento na produção de leite, o que não foi verificado no presente ensaio.

Não foi observada qualquer influência do rbST sobre os teores de lactose no leite das búfalas ( $P > 0,05$ ). Durante o período do experimento os teores de lactose no grupo tratado com 500 mg de rbST ao longo da lactação variaram entre 4,83% e 5,10 %, enquanto no grupo Controle oscilaram entre 4,95 % e 5,14 % (Fig.1; Painel D), estando na faixa de normalidade para os valores de lactose no leite bubalino descritos por Coelho *et al.* (2004) e Figueiredo *et al.* (2010). Outros estudos também não verificaram alteração nos teores de lactose em função da administração de rbST em búfalas leiteiras (Srinivasa-Rao e Ranganadham, 2000; Tarazon-Herrera *et al.*, 2000; Feckinghaus, 2009; Melo *et al.*, 2013).



**Figura 1.** Constituintes e contagem de células somáticas (CCS) do leite de búfalas leiteiras ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Painel A – Produção de leite (Kg); Painel B – Gordura do leite (% m/m); Painel C- Proteína do leite (% m/m); Painel D- Lactose do leite (% m/m); Painel E- Sólidos totais do leite (% m/m); Painel F- Extrato seco desengordurado do leite (% m/m); Painel G- Contagem de células somáticas do leite (x1000)/mL; Painel H- Eletrocondutividade (mS/cm).

Os resultados obtidos mostram não haver influência da aplicação de rbST nos teores de sólidos totais no leite das búfalas em estudo. Durante o período do experimento os teores de sólidos totais no grupo tratado com 500 mg de rbST oscilaram entre 15,20% e 17,10 %, enquanto no grupo Controle variaram entre 15,42% e 16,58% (Fig.1; Painel E), constatando-se valores similares aos descritos por Coelho *et al.* (2004); Figueiredo *et al.* (2010). Verificou-se que os resultados de sólidos totais obtidos na presente pesquisa são análogos aos relatados por Feckinghaus (2009); Melo *et al.* (2013) em bubalinos e por Tarazon-Herrera *et al.* (2000) em bovinos. Uma vez que a gordura é o sólido constituinte majoritário do leite de búfalas, qualquer modificação em suas proporções poderá influenciar o teor de sólidos totais do leite (Cerón-Muñoz *et al.*, 2002). No entanto, como a administração de rbST não afetou a concentração de gordura no leite, o teor de sólidos totais também não foi influenciado.

Os resultados indicam não haver diferença entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) nos teores de extrato seco desengordurado (ESD). Durante o período do experimento os teores de ESD no grupo tratado com 500 mg de rbST oscilaram entre 9,66% e 9,97%, a medida que no grupo Controle variaram entre 9,64% e 9,84% (Fig.1; Painel F), confirmando os valores descritos para os níveis desse composto no leite bubalino por Coelho *et al.* (2004); Figueiredo *et al.* (2010). A concentração de ESD encontrada nesse estudo está abaixo do valor médio de 10,47%, descrito por Macedo *et al.* (2001) em búfalas da raça Murrah no Oeste do Estado de São Paulo e semelhante aos verificados por Araújo *et al.* (2011) em búfalas do Rio Grande do Norte, 9,93 e 10,02% nos períodos chuvoso e seco, respectivamente. O ESD é composto pelas frações de proteína, lactose e cinzas, e depende dos teores individuais destes sólidos e do teor de gordura no leite (Lucena, 2003). Portanto, da mesma forma como os outros constituintes do leite, o ESD também não sofreu influência do tratamento com rbST.

Os resultados obtidos na presente pesquisa mostraram não haver diferença ( $P > 0,05$ ) da CCS entre os tratamentos e período experimental. Durante o período do experimento os valores da contagem de células somáticas no grupo tratado com 500 mg de rbST oscilaram entre 43,57 e 643,45 (x 1000/mL), enquanto o grupo controle oscilaram entre 61,65 e 490,86 (x 1000/mL) (Fig.1; Painel G). Esses resultados estão em concordância com estudos realizados por Tarazon-Herrera *et al.* (2000); Dohoo *et al.* (2003); Feckinghaus (2009); Melo *et al.* (2013), uma vez que os valores referentes a esse parâmetro não sofreram qualquer influência decorrente do tratamento instituído em búfalas.

Não foi observada diferença nos valores médios de eletrocondutividade no leite bubalino entre os tratamentos e períodos experimentais estudados. Os valores de eletrocondutividade no grupo tratado com 500 mg de rbST oscilaram entre 2,86 e 3,34 mS/cm,

enquanto o grupo controle entre 2,61 e 3,39 mS/cm (Fig.1; Painel H). Estes resultados são inferiores os encontrados por Bastos e Birgel (2011) em búfalas criadas no Estado de São Paulo,  $3,82 \pm 0,27$  e  $4,49 \pm 0,89$  mS/cm. De acordo com Santos e Fonseca (2007) a condutividade elétrica apresenta-se aumentada no leite oriundo de animais com mamite em função da elevação na concentração de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , dessa forma é utilizada em algumas vezes como indicativo de doença. Destarte, a somatotropina bovina recombinante não induziu à mamite haja vista que os valores de células somáticas e condutividade elétrica não foram alterados com sua aplicação.

#### 4.4 CONCLUSÃO

A utilização de 500 mg de rbST administrados a cada 14 dias, entre 63 e 154 dias em lactação, não altera a produção de leite, tampouco os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, ESD, CCS e eletrocondutividade do leite de búfalas leiteiras criadas a pasto.

#### REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, T.P.M., RANGEL, A.H.N., SOARES, A.D. et al. Influência das estações do ano sobre a composição do leite de búfalas mantido em tanque de resfriamento. *Agrop. Cient. no Semi-Árido*. v. 07, p. 01-05, 2011.
- AZEVEDO, J. C., SANTOS, E. R.D., MENDES NETO, L. O. R. et al. Produção de leite no dia do controle de búfalas leiteiras no estado do Pará. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA ZOOTEC, 13., 2011, Maceió. *Anais...Maceió*: [s.n] 2011.p.1-3. (Resumo).
- BALDI, A. Manipulating of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domest. Anim. Endocrinol.*v.17, p.131-137, 1999.
- BASTOS, P.A.S., BIRGEL, E.H. Leite de búfalas Murrah, criadas em São Paulo (Brasil): influência da idade, fase de lactação, momento da ordenha e isolamento bacteriano na composição físico-química e celular. *Rev. Educ. Cont. Vet. Med. Zootec.* v.9,n.3, p.06-13, 2011.
- BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J.Dairy Sci.* v. 75, p.3432-3451, 1992.
- CERÓN-MUÑOZ, M. F., TONHATI, M., DUARTE, J. et al. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J.Dairy Sci.* v.85, p.2885- 2889, 2002.
- COELHO, K.O., MACHADO, P.F., COLDEBELLA, A. et al. Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. *Cienc. anim. bras.* v.5, p.167-170, 2004.



- DOHOO, I.R., DESCÔTEAUX, L., LESLIE, K. et al. A meta-analysis review of the effects of recombinant and culling. *Can J Vet Res.* v.67, p.252-264, 2003.
- FECKINGHAUS, M.A. *Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rbST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação.* 2009. 89f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FERREIRA, A.T.; SOUZA, J.C.; PEREIRA, M.N. et al. Influência da somatotropina bovina recombinante (rbst), aplicada um dia após o parto, sobre a produção de vacas da raça Holandês primíparas. *Ciênc. Agrotec.* p.1568-1574, 2002.
- FIGUEIREDO, E.L.; LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; TORO, M.J.U. Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “*in natura*” produzido no estado do Pará. *Rev. Bras. Tecn. Agroindustrial.* v.4, n.1, p.19-28. 2010.
- GONSALVES NETO, J., FERNANDES, S.A.A., SILVA, F.F., PEDREIRA, M.S. Uso de somatotropina bovina em búfalas: efeitos sobre a produção e composição do leite. *Rev. Eletrônica Nutritime.* v.6, p.1056-1071, 2009.
- HELAL, F.I.S., LASHEEN, M.A. The productive performance of egyptian dairy buffaloes receiving biosynthetic bovine somatotropin (rbST) with or without monensin. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* v.3, p.771-777, 2008.
- JABBAR, M.A., AHMAD, I., JAVID, S. et al. Effect of bovine somatotropic hormone on the productive performance of Nili-Ravi buffaloes. *Ital.J.Anim.Sci.* v.6, p.1039-1042, 2007.
- JORGE, A.M., GOMES, M.I.F.V., HALT, R.C. Efeito da Utilização da Somatotropina recombinante bovina (bST) sobre a produção de leite em búfalas. *Rev Bras Zootec.* v.31, p.1230-1234, 2002.
- LUCENA, J.A. *Efeitos da somatotropina recombinante bovina (bst), da raça e da alimentação sobre a produção e a qualidade do leite de cabra na região nordeste do Brasil.* 2003. 118f. Tese (Doutorado em Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- MACEDO, M.P., WECHSLER, F.S., RAMOS, A.A. et al. Composição físico-química e produção de leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. *Rev Bras Zootec.* v.30, p. 1084-1088, 2001.
- MELO, W. O. ; VIANA, R. B.; MONTEIRO, B. M. et al. Produção e composição do leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina no pico de lactação. *Acta Veterinaria Brasilica,* v. 7, p. 218-228, 2013.
- MISHRA, A.; SHUKLA. Effect of Recombinant Bovine Somatotropin (Boostin-250) on Blood Metabolites and Milk Yield of Lactating Buffaloes. *Asian-Australas J Anim Sci,* v.17, n.9, p.1232-1235, 2004.

- PIVATO, I. 2005. Aspiração Folicular em Bovinos-Efeito do bST. In: Workshop de Reprodução Animal. 02: 61-76.
- PRASAD, J., SINGH, M. Milk production and hormonal changes in Murrah buffaloes administered recombinant bovine somatotropin (rbST). *Agric. Biol. J. N. Am.*v.1, p. 1325-1327, 2010.
- RODRIGUES, M. Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a Produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. da. 2007. Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 314p.
- SANTOS, R.A., TEIXEIRA, J.C., ABREU, L.R. et al. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rbST) na produção e composição do leite. *Ciênc. agrotec.* v.25, p.1435-1445, 2001.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C.Q. 2002. Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa, MG, editora UFV, 235p.
- SRINIVASA-RAO, K.; RANGANADHAM, M. Effect of bovine somatotropin on milk production and composition in lactating Murrah buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.*v.53, p.46-50, 2000.
- STELWAGEN, K., GRIEVE, D.G., MCBRIDE, B.W., REHMAN, J.D. Growth and subsequent lactation in primigravid Holsteins heifers after parturition bovine somatotropin treatment. *J.Dairy Sci.* v.75, p.463-471, 1992.
- TARAZON-HERRERA, M.A., HUBER, J.T., SANTOS, J.E.P. et al. Effects of bovine somatotropin on milk yield and composition in Holstein cows in advanced lactation fed low or high energy diets. *J.Dairy Sci.* v.83, p. 430-434, 2000.

## **CAPÍTULO IV**

**Artigo original**

### **5 USO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA EM BÚFALAS LEITEIRAS II: METABOLISMO ENERGÉTICO E MINERAL**

## 5 Uso da somatotropina recombinante bovina em búfalas leiteiras II: metabolismo energético e mineral<sup>4</sup>

[*Use of recombinant bovine somatotropin (rbST) in dairy buffaloes II: energy and mineral metabolism*]

### RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre o metabolismo energético e mineral de búfalas entre 64 – 154 dias em lactação. Foram utilizadas 22 búfalas distribuídas em dois grupos experimentais: Grupo rbST - aplicação de 500 mg de rbST a cada 14 dias; Grupo Controle - sem aplicação de rbST. A cada sete dias, foram colhidas amostras de sangue para a determinação do perfil bioquímico, mensurada a produção de leite e escore de condição corporal dos animais. A média dos parâmetros estudados para os grupos rbST e Controle foram, respectivamente: produção de leite - 6,44 kg vs. 6,68 Kg; escore de condição corporal - 3,51 vs 3,57 (1-5); glicose - 70,58 vs 64,81 mg/dL; colesterol - 132,38 vs 133,40 mg/dL; triglicérides -29,18 vs 28,32 mg/dL; proteína total - 8,57 vs 8,75 mg/dL; albumina - 3,47 vs 3,60 mg/dL; ureia - 32,46 vs 33,86 mg/dL; creatinina - 1,27 vs 1,39 mg/dL; cálcio - 10,25 vs 10,73 mg/dL; fósforo - 5,76 vs 5,62 mg/dL; e magnésio - 3,70 vs 3,70 mg/dL. A utilização de 500 mg de rbST administrados quinzenalmente, não alterou a produção de leite, escore de condição corporal; e metabólicos energético, proteico e mineral em búfalas leiteiras.

**Palavras-chave:** *Bubalus bubalis*, hormônio do crescimento, produção de leite, metabólito sanguíneo

### ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the influence of recombinant bovine somatotropin (rbST) on the energy and mineral metabolism of buffaloes between 64 - 154 days in milk. Twenty-two buffaloes distributed in two experimental groups were used: Group rbST (n = 11) - application of 500 mg of rbST every 14 days; Control Group (n = 11) - no rbST. Every seven days, blood samples were taken to determine the biochemical profile, and milk production and body condition score were measured. The averages of the variables for rbST and Control groups were, respectively: milk production - 6.44 kg vs. 6.68 kg; body condition score - 3.51 vs 3.57 (1-5); glucose - 70.58 vs. 64.81 mg/dL; cholesterol - 132.38 vs. 133.40 mg/dL; triglycerides - 29.18 vs. 28.32 mg/dL; total protein - 8.57 vs. 8.75 mg/dL; albumin - 3.47 vs 3.60 mg/dL; urea - 32.46 vs 33.86 mg/dL; creatinine - 1.27 vs 1.39 mg/dL; calcium - 10.25 vs. 10.73 mg/dL;

<sup>4</sup> Este capítulo segue as normas do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

phosphorus - 5.76 vs 5.62 mg/dL; and magnesium - 3.70 vs 3.70 mg/dL. Use of 500 mg rbST biweekly did not alter milk production, body condition score, as well as energy and mineral metabolism of grass-fed buffaloes.

**Keywords:** *Bubalus bubalis*, growth hormone, milk production, blood metabolites

## 5.1 INTRODUÇÃO

Dentre os métodos disponíveis no mercado para melhorar a eficiência e a rentabilidade das propriedades leiteiras está o uso da somatotropina recombinante bovina (rbST), considerada uma biotecnologia alternativa para aumentar a produção de leite e a persistência da lactação de vacas leiteiras de alta produção (Rodrigues, 2008).

Também conhecida como hormônio do crescimento (STH), a somatotropina é um hormônio pituitário que controla aspectos relacionados ao crescimento animal, metabolismo de nutrientes, além de afetar a função reprodutiva (Castigliero *et al.*, 2011). Seu mecanismo de ação envolve uma série de arranjos metabólicos no tecido animal, direcionando nutrientes para a glândula mamária, caracterizando-se como um excelente coordenador de nutrientes que aumenta a eficiência biológica para síntese de leite (Bauman *et al.*, 1992).

Os metabólitos sanguíneos têm sido utilizados principalmente como auxiliares do diagnóstico clínico, mas a partir do termo perfil metabólico, a bioquímica sanguínea passou a ser alvo de maior interesse na avaliação de rebanhos com diferentes índices produtivos e reprodutivos, indicando desequilíbrios nutricionais e metabólicos (Peixoto e Osório, 2007; Khan *et al.*, 2011).

Estudos têm sido realizados para verificar a influência da somatotropina recombinante bovina sobre os metabolismos energético e mineral de bubalinos (Mishra e Shukla, 2004; Jabbar *et al.*, 2007; Helal e Lasheen, 2008; Feckinghaus, 2009; Prasad e Singh, 2010), no entanto, os efeitos desse hormônio sobre a produção de leite, ganho de peso e perfis metabólico e mineral de búfalas em lactação ainda são muito variáveis e controversos, principalmente quando se compara aos efeitos já bem aclarados em vacas. Portanto, fazem-se necessárias pesquisas que descrevam a ação da rbST em búfalas leiteiras, não somente sobre a produção de leite, mas também a influência desse fármaco sobre os biomarcadores dos metabolismos energético e mineral nestas fêmeas ao longo da lactação.

Acredita-se que a aplicação contínua de rbST ao longo da lactação aumenta a produção de leite das búfalas, alterando a proporção dos metabólitos energéticos e minerais sanguíneos. Dessa maneira, objetiva-se quantificar os efeitos das aplicações de somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a produção de leite, o escore de condição corporal e os biomarcadores dos

metabolismos energético, protéico e mineral durante a lactação de búfalas criadas trópico úmido amazônico.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Ufra, Protocolo 021/2016 (CEUA) – 23084.006670/2016-28 (Ufra), no qual se verificou que foram atendidas plenamente todas as exigências da Lei Federal 11.794/08 (Lei Arouca), sendo respeitados os Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA, e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

O experimento foi conduzido em uma fazenda localizada no município de Mojú, Mesorregião Nordeste do Estado do Pará. O clima da região é caracterizado como Ami (quente úmido), de acordo com a classificação de Köppen, com temperatura média anual entre 25 e 27°C e precipitação anual entre 2.000 e 3.000 mm/m<sup>2</sup>, com distribuição irregular. A umidade relativa do ar é elevada, com Índice de Umidade Relativa anual média de 77,9% (Azevedo *et al.*, 2011).

Foram utilizadas 22 búfalas adultas de diferentes grupamentos genéticos mestiças com predominância genética da raça Murrah (*Bubalus bubalis*). Todas as búfalas eram multíparas, lactantes com partos eutócicos, com média de 66 ± 1,74 dias em lactação (DEL) e 6,97 ± 1,55 litros de leite por dia, em duas ordenhas diárias, escore corporal 3,31 (1-5) e peso corporal 513,17 kg.

Os animais foram mantidos em lotação intermitente em *Brachiaria* (*syn. Urochloa*) *humidicola* (Quicuío da Amazônia), *Brachiaria* (*syn. Urochloa*) *brizantha* e *Panicum maximum* cv. Mombaça, recebendo água e sal mineral *ad libitum*. Adicionalmente às pastagens, as búfalas em lactação recebiam o quantitativo de 1 Kg de ração/dia, constituída por 30,61% de torta de murumuru (*Astrocaryum murumuru*), 61,29% de farelo de milho (*Zea mays*), 3,1% de núcleo mineral e 5% de ureia.

A ração era constituída por 93,02% de matéria seca (MS), 8,41% de matéria mineral (%), 18,17% de proteína bruta (PB), 3,15% de extrato etéreo (EE), 23,9% de fibra em detergente neutro (FDN) e 10,96% de fibra detergente ácido (FDA) obtida por meio da metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

As búfalas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais: 11 búfalas que receberam a aplicação de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (Grupo rbST; 2 mL de Boostin – MSD Saúde Animal) a cada 14 dias, por via subcutânea na fossa ísquio-retal, alternando-se os lados esquerdo e direito a cada aplicação, totalizando sete aplicações, cuja

primeira se deu aos 63 dias em lactação e última aos 154 dias em lactação; 11 búfalas que não receberam aplicação de rbST (Grupo Controle).

As fêmeas eram ordenhadas manualmente, duas vezes ao dia, com intervalo médio de 12 horas entre as ordenhas. O controle da produção de leite foi realizado semanalmente, com esgota total prévia de 12 horas, nos intervalos 63-70; 77-84; 91-98; 105-112; 119-126; 133-140; e 147-154 dias em lactação.

As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular externa utilizando-se um sistema de colheita a vácuo, a cada sete dias logo após a primeira ordenha (jejum de 12 horas), sendo as duas últimas colheitas realizadas com intervalos de 14 dias. As amostras para determinação dos teores plasmáticos de glicose foram colhidas em tubos siliconados contendo fluoreto de sódio (Tubos BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA) e mantidas sob refrigeração até o processamento no laboratório. Para as demais análises, as amostras foram colhidas em tubos siliconados sem anticoagulante.

Para obtenção do plasma e do soro sanguíneos, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a uma velocidade de 1.150 G, sendo a seguir separados por aspiração o plasma e o soro, respectivamente. As amostras foram alíquotadas e acondicionadas em freezer a -20°C, para posterior análise.

As determinações da concentração plasmática de glicose, colesterol, triglicérides, proteínas totais séricas, albumina sérica, ureia sérica, creatinina sérica, cálcio sérico, fósforo sérico e magnésio sérico, foram realizadas no analisador bioquímico automático do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Para determinação da glicose plasmática (método GPO-PAP), colesterol (método Enzimático-colorimétrico com LCF), triglicérides (método GPO-PAP. Enzimático Colorimétrico c/ LCF), proteínas totais séricas (método Biureto), albumina sérica (método Verde de Bromocresol - VBC), ureia sérica (método Enzimático Colorimétrico GLDH), creatinina sérica (método Cinético Colorimétrico (Jaffé), cálcio sérico (método O-cresolftaleína-complexona -CFC), fósforo sérico (método Fosfomolibdato UV), magnésio sérico (método Azul de Xilidila) foram utilizados kits comerciais (InVitro Diagnóstica) em um analisador bioquímico automatizado HumaStar3003 (HumaCount Plus – Human GmbH, Max Planck-Rng21, Wesbaden – Alemanha).

O escore de condição corporal (ECC) dos animais foi estimado de acordo com Houghton *et al.* (1990), modificado, acrescentando-se 0,5 unidade entre às mensurações, sendo 1 equivalente ao animal muito magro e 5 o animal obeso. Todas as avaliações foram aferidas pelo mesmo examinador a cada sete dias durante o período experimental.

A estatística descritiva dos dados, representada pelas médias aritméticas e os desvios padrão (DP) de cada tratamento, foi obtida pelo procedimento *Means* do programa SAS versão 9.2 (SAS/STAT, SAS Institute Inc., Cary, NC). Os testes de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias de cada tempo foram realizados utilizando o *Guide Data Analyse* do SAS. Os dados que não preencheram os pressupostos para a análise de variância (ANOVA) foram transformados em conformidade, de acordo as sugestões de transformação sugeridas pelo próprio programa.

A comparação entre as médias dos grupos dentro de cada tempo (trat/tempo) foi realizada por meio do teste de médias *Tukey*, por meio do comando *Least Square Means (LSMeans)* do SAS. Foi utilizado o nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

### **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não houve efeito significativo de tratamento (rbST) para nenhuma das variáveis estudadas (Tab. 1). Para consubstanciar e melhor fundamentar as discussões dos parâmetros encontrados para os metabólitos sanguíneos e escore de condição corporal, são apresentados os dados da produção de leite (Tab. 1) das búfalas no período estudado.



**Tabela 1.** Média e desvio padrão (DP) da produção de leite (Kg), metabólitos sanguíneos (mg/dL) e ECC (1-5) de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (controle) durante a lactação

	Controle		rbST		Tratamento	P value	
	Média	DP	Média	DP		Tempo	Trat*Tempo
Produção de leite, Kg	6,63	1,86	6,54	2,38	0,6219	<0,0001	0,0053
ECC, 1-5	3,57	0,40	3,51	0,34	0,6520	0,0921	0,0639
Glicose, mg/dL	64,75	7,45	69,97	9,06	0,0003	0,0166	0,1362
Colesterol, mg/dL	133,36	29,68	132,80	29,61	0,9196	0,6804	0,9389
Triglicérides, mg/dL	28,37	11,48	29,65	13,02	0,7695	0,0641	0,9496
Proteína total, mg/dL	8,76	0,62	8,57	0,49	0,0998	0,0009	0,8664
Albumina, mg/dL	3,60	0,44	3,48	0,41	0,5583	<0,0001	0,1720
Ureia, mg/dL	33,79	11,19	32,35	11,68	0,7604	<0,0001	0,5184
Creatinina, mg/dL	1,38	0,18	1,27	0,21	0,5194	<0,0001	0,6411
Cálcio, mg/dL	10,73	1,37	10,31	1,08	0,0959	<0,0001	0,4285
Fósforo, mg/dL	5,61	1,12	5,77	1,08	0,6529	0,4453	0,7894
Magnésio, mg/dL	3,70	0,13	3,70	0,16	0,9036	0,0034	0,4825

Percebe-se nos resultados avaliados que não houve um efeito positivo da rbST na produção de leite das búfalas tratadas ( $P > 0,05$ ) (Fig.1; Painel A). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Jabbar *et al.* (2007) que verificaram o efeito do uso prolongado de rbST sobre a produtividade em búfalas da raça Nili-Ravi multíparas em lactação, distribuídas em três grupos: animais tratados com 250 mg de rbST com intervalo de 14 dias; 36 mg de rbST em dias alternados; e búfalas controle que não receberam rbST. Os autores não constataram diferença significativa na produção média de leite entre os tratamentos. Em contrapartida, as pesquisas de Jorge *et al.* (2002); Mishra e Shukla (2004); Hedál e Lasheen (2008) descreveram aumentos significativos na produção de leite de búfalas tratadas com rbST.

A resposta a rbST varia consideravelmente dependendo da espécie, modalidade de tratamento, estágio de lactação e nutrição animal (Baldi, 1999). Dessa forma, o não incremento significativo na produção de leite nas búfalas do presente experimento pode estar associado a alguns fatores como o estágio da lactação em que o rbST foi aplicado e, sobretudo, ao manejo nutricional, onde o fornecimento de concentrado era feito sem considerar a produção de leite, e

isso pode ter induzido a menor resposta ao hormônio, conforme também observaram Santos *et al.* (2001).

No presente estudo não se observou efeito da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rbST) no escore de condição corporal (ECC) de búfalas leiteiras, durante o período estudado ( $P > 0,05$ ) (Tab.1). Estes resultados corroboram os obtidos por Feckinghaus (2009), que também não encontraram diferenças significativas no ECC de búfalas da raça Murrah entre animais tratados ou não com rbST.

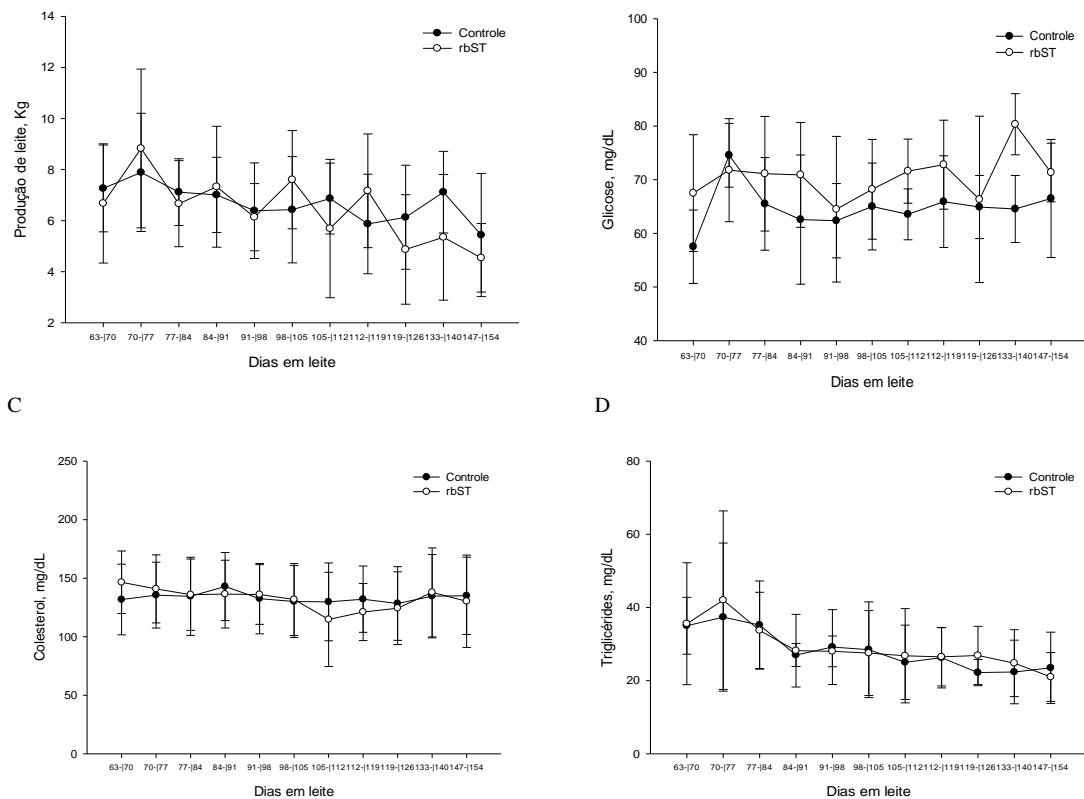
O não efeito da administração da rbST no ECC pode estar associado ao status energético do animal, pois, segundo Lanna *et al.* (1995), quando a vaca se encontra em balanço energético positivo (BEP) no início do tratamento com rbST, há uma redução da síntese de lipídeos no tecido adiposo, aumentando a disponibilidade de substratos para suportar o aumento da produção de leite. Por outro lado, Bauman (1992) reporta que se a vaca encontra-se em balanço energético negativo (BEN) ou próximo à zero quando o tratamento com rbST é iniciado, suas reservas corporais são mobilizadas para fornecer os nutrientes para síntese adicional de leite resultando em perda de condição corporal.

Com excessão da glicose, não foi observada qualquer influência do rbST sobre a concentração plasmática dos metabólitos energéticos sanguíneos estudados. Durante o período do experimento os teores de glicose (Fig.1; Painel B), colesterol (Fig.1; Painel C) e triglicérides (Fig.1; Painel D) no grupo tratado com 500 mg de rbST ao longo da lactação variaram entre 64,50 e 80,33 mg/dL, 114,80 e 146,55 mg/dL; e 21,00 e 42,00 mg/dL enquanto no grupo Controle oscilaram entre 57,50 e 74,56 mg/dL, 128,40 e 142,90 mg/dL; e 22,20 e 37,36 mg/dL, respectivamente. Esses resultados se assemelham com os obtidos por Heddal e Lasheen (2008), que também não encontraram diferença significativa para os níveis de colesterol, mas observaram que as búfalas submetidas ao tratamento de 500 mg de rbST tiveram acréscimo nos teores de glicose plasmática em relação aos animais do grupo controle. Já outros estudos não verificaram alteração nos teores de glicose e dos demais metabólitos energéticos em função da administração de rbST em búfalas leiteiras (Mishra e Shukla, 2004; Feckinghaus, 2009; Kachiwal *et al.*, 2015).

Durante a lactação inicial, a glicose é utilizada quase exclusivamente pelas glândulas mamárias (exceções são sistema nervoso e cérebro) e o aumento da produção de leite é fortemente dependente do acréscimo da oferta de glicose para a glândula (Gülay e Hatipoglu, 2005). Sob efeito desse fármaco, o transporte de glicose estaria bloqueado para os tecidos periféricos, condição conhecida como atividade diabetogênica, o que resultaria em maior quantidade líquida de glicose na circulação (Amorim *et al.*, 2007).

Os níveis de lipídeos sanguíneos estão correlacionados com a produção leiteira das búfalas onde, de acordo com Monteiro *et al.* (2012), o teor máximo de colesterol plasmático foi observado entre 60 e 200 dias de lactação, diminuindo juntamente com a produção de leite, já os teores de triglicerídeos apresentaram correlação negativa ( $r = -0,60$ ;  $P < 0,0001$ ) com a produção do leite e rendimento da gordura láctea. Assim, os níveis desses metabólicos sanguíneos estão ligados diretamente com as exigências nutricionais para o aumento da produção de leite em búfalas.

Para atender essa crescente demanda energética para produção de leite nos animais em balanço energético negativo (BEN), a somatotropina recombinante bovina estimula o aumento da mobilização de reservas de energia corporal (lipólise) aumentando os níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol (Mishra e Shukla, 2004; Chaiyabutr *et al.*, 2008). Dessa forma, a não alteração nas concentrações plasmáticas de colesterol e triglicérides em búfalas tratadas com rbST se deve ao fato que os animais possivelmente estavam em balanço energético positivo. Além disso, o aumento na produção de leite entre o grupo rbST e Controle não foi significativo. Portanto, não houve necessidade de mobilização das reservas energéticas corporais para incremento desses metabólicos, o que corrobora os resultados do ECC da presente pesquisa que também não foi influenciado pela administração da somatotropina bovina.

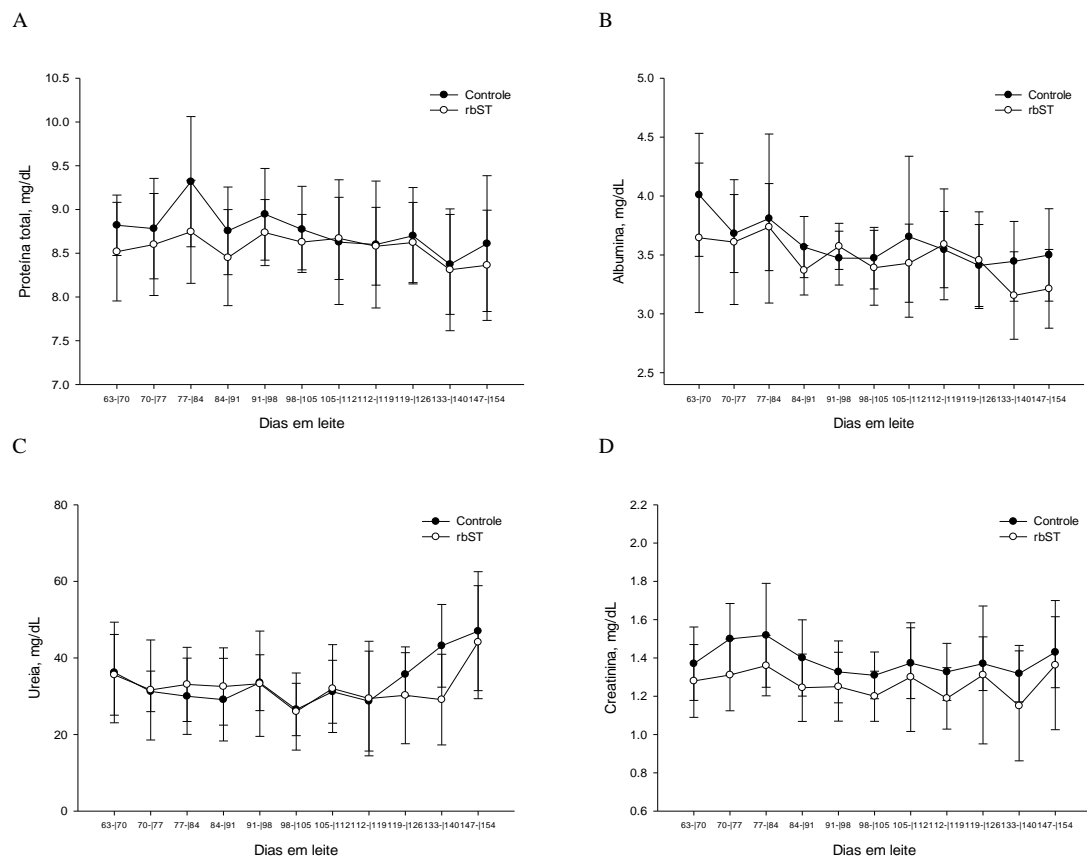


**Figura 1.** Produção de leite (Kg) e metabólitos sanguíneos energéticos (mg/dL) de búfalas ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Paineis A – Produção de leite (Kg); Paineis B – Glicose (mg/dL); Paineis C – Colesterol (mg/dL); Paineis D – triglicérides (mg/dL).

Não foi observada influência do rbST sobre a concentração plasmática dos metabólitos proteicos sanguíneos estudados. Durante o período do experimento os teores de proteína total (Fig.2; Painel A), albumina (Fig.2; Painel B); ureia (Fig.2; Painel C) e creatinina (Fig.2; Painel D) no grupo tratado com 500 mg de rbST ao longo da lactação variaram entre 8,31 e 8,75 mg/dL, 3,16 e 3,74 mg/dL, 26,00 e 44,13 mg/dL, e 1,15 e 1,36 mg/dL, enquanto no grupo Controle oscilaram entre 8,37 e 9,32 mg/dL, 3,41 e 4,01 mg/dL, 26,55 e 47,00 mg/dL, e 1,31 e 1,52 mg/dL respectivamente.

Outros estudos também não verificaram alterações nos teores de proteína total (Mishra e Shukla, 2004; Jabbar *et al.*, 2007; Kachiwal *et al.*, 2015), albumina (Mishra e Shukla, 2004; Heddal e Lasheen, 2008; Khattab *et al.*, 2008) e ureia (Heddal e Lasheen, 2008; Khattab *et al.*, 2008) em búfalas, e creatinina (Abdelrahman *et al.*, 2010) em vacas em função da administração de rbST. Em contraponto, Heddal e Lasheen (2008) e Khattab *et al.* (2008) observaram aumento dos níveis de proteína total em búfalas tratadas com somatotropina bovina, já Abdelrahman *et al.* (2010) relataram diminuição nos teores de ureia plasmática em vacas.

Para aumentar a proteína do leite é necessário aminoácido ou nitrogênio não proteico (NNP). Uma das ações fisiológicas clássicas da somatotropina é a sua habilidade em promover a conservação de nitrogênio. Ela reduz a taxa de renovação da proteína muscular e a oxidação de aminoácidos para produção de energia de modo que existam mais aminoácidos disponíveis para a síntese de proteínas do leite e síntese de proteína muscular levando a redução dos níveis séricos de ureia e creatinina (Rangel *et al.*, 2008). Dessa forma, possivelmente, essa não alteração no metabolismo proteico das búfalas tratadas com rbST se deve ao fato que não houve aumento significativo na produção de leite e alteração do ECC. Assim, não houve acréscimo nas necessidades de aminoácidos para produção de proteína láctea e de energia via gliconeogênese para síntese do leite.

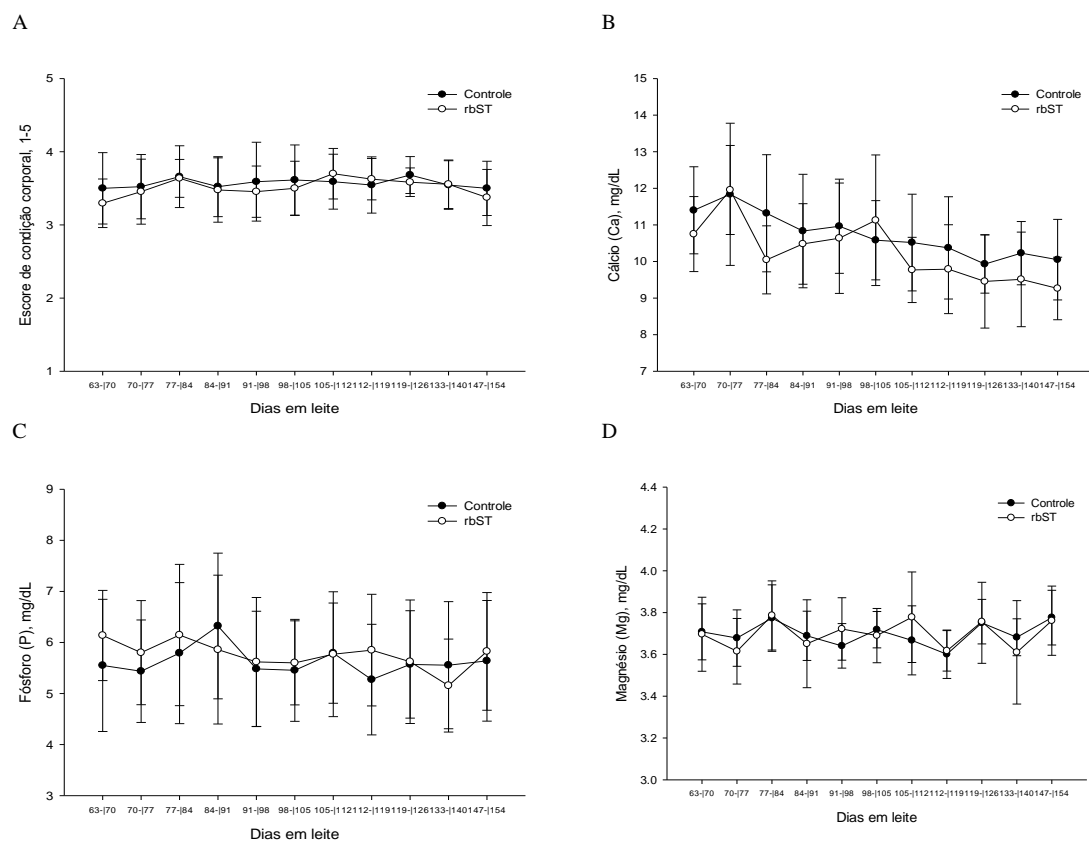


**Figura 2.** Metabólitos sanguíneos proteicos (mg/dL) de búfalas ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Painel A –Proteína Total (mg/dL); Painel B- Albumina (mg/dL); Painel C- Ureia (mg/dL); Painel D- Creatinina (mg/dL).

Não foi observada influência do rbST sobre a concentração sérica dos metabólitos minerais sanguíneos estudados. Durante o período do experimento os teores de Cálcio (Fig.3; Painel B), Fósforo (Fig.3; Painel C) e Magnésio (Fig.3; Painel D) no grupo tratado com 500 mg de rbST ao longo da lactação variaram entre 9,26 e 11,95 mg/dL, 5,16 a 6,15 mg/dL, e 61 e

3,79 mg/dL enquanto no grupo controle oscilaram entre 9,93 e 11,84 mg/dL mg/dL, 5,27 a 6,32 mg/dL, e 3,60 e 3,78 mg/dL respectivamente, corroborando os estudos de Deshmukhi *et al.* (2001) que também não observaram alterações nos teores de desses metabolitos em função da administração de rbST em vacas leiteiras, e Jabbar *et al.* (2007) e Kachiwal *et al.* (2015) nos teores de cálcio sérico. Em contraponto, Abdelrahman *et al.* (2010) encontraram uma diminuição significativa no nível de cálcio acompanhado de um aumento no fósforo em vacas múltiparas tratadas com somatotropina.

De acordo com Peel e Bauman (1987) dentre as mudanças que ocorrem na absorção e mobilização de minerais no organismo, ao se utilizar rbST, observa-se maior absorção e ou mobilização de Ca e P e outros minerais requeridos para a produção de leite. Dessa forma, possivelmente essa não alteração no metabolismo dos minerais das búfalas tratadas com rbST, deve-se ao fato que não houve aumento significativo na produção de leite, portanto, não houve um acréscimo nas necessidades de cálcio, fosforo e magnésio para síntese do leite.



**Figura 3.** Escore de condição corporal (1-5) e metabólitos sanguíneos minerais (mg/dL) de búfalas ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (Controle). Painel A – Escore de condição corporal (1-5); Painel B – Cálcio (mg/dL); Painel C- Fósforo (mg/dL); Painel D- Magnésio (mg/dL).

## 5.4 CONCLUSÃO

A utilização de 500 mg de rbST administrados a cada 14 dias, entre 63 e 154 dias em lactação, alterou o metabolismo da glicose, porém não modificou a produção de leite, escore de condição corporal, tampouco os demais metabólicos energéticos estudados (colesterol e triglicérides), protéicos (proteína total, albumina ureia e creatinina) e minerais (cálcio, fósforo e magnésio) em búfalas leiteiras criadas a pasto.

## REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, A.H.; KHALIL, A.S.; EL-HAMAMSY, H.T.; EZZO, O.H. The Effect of Recombinant Bovine Somatotropin Administration on Milk Production, Some Hemato-Biochemical Parameters and Reproductive Performance of Lactating Cows. *Global Veterinaria*. v.4, n.4, p. 366-373, 2010.
- AMORIM, L.S.; TORRES, C.A.A.; MORAES, E.A.; SILVA FILHO, J.M.; GUIMARÃES, J.D. Perfil metabólico de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) confinados e tratados com somatotrofina bovina recombinante (r-bST). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.2, p.434-442, 2007.
- AZEVEDO, J. C., SANTOS, E. R.D., MENDES NETO, L. O. R. et al. Produção de leite no dia do controle de búfalas leiteiras no estado do Pará. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA ZOOTEC, 13., 2011, Maceió. *Anais...Maceió*: [s.n] 2011.p.1-3. (Resumo).
- BALDI, A. Manipulating of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domest. Anim. Endocrinol*, v. 17, p. 131-137, 1999.
- BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J.Dairy Sci.* v. 75, p.3432-3451, 1992.
- CASTIGLIEGO, L.; LI, X.N.; ARMANI, A., GRIFONI, G.; BOSELLI, C.; ROSATI, R.; GIANFALDONI, D.; GUIDI, A. Hormone variations in serum and milk of buffaloes (*Bubalus bubalis*) as potential indicators of treatment with recombinant bovine somatotropin. *J.Dairy Sci.* v.78, p. 412–420, 2011.
- CHAIYABUTR, N.; THAMMACHAROEN, S.; KOMOLVANICH, S.; CHANPONGSANG, S. Effects of long-term administration of recombinant bovine somatotropin on the concentration of metabolites in milk in different stages of lactation in crossbred Holstein cattle. *Anim. Sci. J.* v.79, p. 41–50, 2008.
- DESHMUKHI, B.T; NAGVEKAR, A.S.; TALVELKARJ, B.A.; DALVI, S.H.; CHINCHKAR, S.R. Effect of bovine somatotropin on blood serum minerals, thyroid hormones

- and reproductive performance of lactating crossbred cows. *Indian J. Anim. Sci.* v.71, n. 7, 663-666, 2001.
- during lactation and dry period. *Rev. Cienc. Agrar.* v. 55, n. 1, p. 33-39, 2012.
- FECKINGHAUS, M.A. *Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rbST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação.* 2009. 89f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GONSALVES NETO, J., FERNANDES, S.A.A., SILVA, F.F. et al. Uso de somatotropina bovina em búfalas: efeitos sobre a produção e composição do leite. *Rev. Eletrônica Nutritime.* v.6, p.1056-1071, 2009.
- GÜLAY, M.S.; HATIPOGLU, F.S. Use of Bovine Somatotropin in the Management of Transition Dairy Cows. *Turk J Vet Anim Sci.* v.29, p.571-580, 2005.
- HELAL, F.I.S., LASHEEN, M.A. The productive performance of egyptian dairy buffaloes receiving biosynthetic bovine somatotropin (rbST) with or without monensin. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* v.3, p.771-777, 2008.
- HOUGHTON, P. L., LEMENAGER, R. P., HORSTMAN, L. et al. Effects of body composition, pre and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J Anim Sci.* v. 68, p. 1438-1446, 1990.
- JABBAR, M.A., AHMAD, I., JAVID, S. et al. Effect of bovine somatotropic hormone on the productive performance of Nili-Ravi buffaloes. *Ital.J.Anim.Sci.* v.6, p.1039-1042, 2007.
- JORGE, A.M.; GOMES, M.I.F.V.; HALT, R.C. Efeito da Utilização da Somatotropina Bovina Recombinante (bST) sobre a Produção de Leite em Búfalas. *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.3, p.1230-1234, 2002.
- KACHIWAL, A.B.; SHEIKH, B.A.; SHEIKH, S.A.; QURESHI, T.A.; MEMON, K.H. Effect of rbST on Serum Biochemical Values During Various Physiological and Weather Conditions in Kundhi Buffaloes. *J. Buffalo Sci*, v.4, p.1-9, 2015.
- KHAN, H.M.; MOHANTY, T.K.; BHAKAT, M et al. Relationship of Blood Metabolites with Reproductive Parameters during Various Seasons in Murrah Buffaloes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* v.24, n.9, p.1192-1198, 2011.
- KHATTAB, H.M.M.; EL-SAVED, H.M.; ABO EL-NOR, S.A.H.; EL-ALAMY, H.A.; ABD EL-GAWAD, R.M.A. Impact of Bovine Somatotropin and Monensin on the Productive Performance of Egyptian Dairy Buffaloes. *J.Dairy Sci.* v.3, n.1, p.11-19, 2008.
- LANNA, D.P.D.; HOUSEKNECHT, K.L.; HARRIS, D.M.; BAUMAN, D.E. Effects of somatotropin treatment on lipogenesis, lipolysis, and related cellular mechanisms in adipose tissue of lactating cows. *J.Dairy Sci*, v. 78, n. 8, p.1703-1712, 1995.



- MISHRA, A.; SHUKLA. Effect of Recombinant Bovine Somatotropin (Boostin-250) on Blood Metabolites and Milk Yield of Lactating Buffaloes. *Asian-Australas J Anim Sci*, v.17, n.9, p.1232-1235, 2004.
- MONTEIRO, B.M.; YASUOKA, M.M.; POGLIANI, C.; AYRES, H.; VIANA, R.B.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Lipid and glucose profiles of dairy buffaloes
- PEEL, C.J.; BAUMAN, D.E. Somatotropin and lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 70, p. 474-486, 1987.
- PEIXOTO, L.A.O.; OSÓRIO, M.T.M. Perfil metabólico protéico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. *Ver. Bras. de Agrociência*, v. 13, n. 3, p. 299-304, 2007.
- PRASAD, J., SINGH, M. Milk production and hormonal changes in Murrah buffaloes administered recombinant bovine somatotropin (rbST). *Agric. Biol. J. N. Am.*v.1, p. 1325-1327, 2010.
- RANGEL, A.H.N., DIVINO, M.R., LEONEL, F.P., LIMA JÚNIOR, D.M. Somatotropina na pecuária de leite. *Pubvet*, v. 2, n. 22, p. 1982-1263, 2008.
- RODRIGUES, M. Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a Produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- SANTOS, R.A.; TEIXEIRA, J.C.; ABREU, L.R.; MUNIZ, J.A.; DERESZ, F. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rBST) na produção e composição do leite. *Ciênc. Agrotec.*, v. 25, n. 6, p. 1435-1445, 2001.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C.Q. 2002. *Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa, MG, editora UFV, 235p.

## 6 CONCLUSÕES GERAIS

O analisador ultrassônico de leite pode ser utilizado para determinação de gordura no leite de búfalas, haja visto a alta correlação observada. Para os demais constituintes do leite de búfalas, sugere-se que mais estudos e ajustes técnicos e metodológicos devem ser feitos para a utilização do analisador ultrassônico, sobretudo considerando os fatores que interferem na utilização de ambas as técnicas como métodos de conservação, uso ou não de conservantes, temperatura e tempo de coleta e processamento das amostras.

Verificou-se que a utilização de 500 mg de rbST administrados a cada 14 dias, entre 63 e 154 dias em lactação, não altera a produção de leite, tampouco os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, ESD, CCS e eletrocondutividade do leite de búfalas leiteiras criadas a pasto.

O uso da somatotropina influenciou o metabolismo da glicose, porém não modificou o escore de condição corporal e os níveis dos demais metabólicos energéticos (colesterol e triglicérides), protéicos (proteína total, albumina ureia e creatinina) e minerais (cálcio, fósforo e magnésio) em búfalas leiteiras.

## REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, A.H.; KHALIL, A.S.; EL-HAMAMSY, H.T.; EZZO, O.H. The Effect of Recombinant Bovine Somatotropin Administration on Milk Production, Some Hemato-Biochemical Parameters and Reproductive Performance of Lactating Cows. *Global Veterinaria*. v.4, n.4, p. 366-373, 2010.
- ALEIXO, M.A.; KOZICKI, L.E.; WEISS, R.R.; SEGUI, M.S.; PERCY JUNIOR, R. A Somatotropina recombinante bovina (bst) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros. *Arch. vet. sci.* v. 10, n. 2, p. 19-27, 2005.
- ALVES, M.F.C.C. *Avaliação metabólica de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja cru e tratado com calor*. 82 f. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- AMARAL, F. R. et al. Qualidade do leite de búfalas: composição. *Rev. bras. reprod. anim.* v.29, n.2, p.106-110, 2005.
- AMORIM, L.S.; TORRES, C.A.A.; MORAES, E.A.; SILVA FILHO, J.M.; GUIMARÃES, J.D. Perfil metabólico de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) confinados e tratados com somatotrofina bovina recombinante (r-bST). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.59, n.2, p.434-442, 2007.
- ARAÚJO, T.P.M., RANGEL, A.H.N., SOARES, A.D. et al. Influência das estações do ano sobre a composição do leite de búfalas mantido em tanque de resfriamento. *Cient. no Semi-Árido*. v. 07, p. 01-05, 2011.
- AZEVEDO, J. C., SANTOS, E. R.D., MENDES NETO, L. O. R. et al. Produção de leite no dia do controle de búfalas leiteiras no estado do Pará. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA ZOOTEC, 13., 2011, Maceió. *Anais...Maceió*: [s.n] 2011.p.1-3. (Resumo).
- BALDI, A. Manipulating of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domest. Anim. Endocrinol.* v. 17, p. 131-137, 1999.
- BASTOS, P.A.S. *Constituição físico-química, celular e microbiológica do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no Estado de São Paulo*.130f. 2004. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- BASTOS, P.A.S., BIRGEL, E.H. Leite de búfalas Murrah, criadas em São Paulo (Brasil): influência da idade, fase de lactação, momento da ordenha e isolamento bacteriano na composição físico-química e celular. *Rev. Educ. Cont. Vet. Med. Zootec.* v.9,n.3, p.06-13, 2011.
- BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J Dairy Sci.* v.75, n.12, p.3432-3451, 1992.

- BAUMAN, D.E.; Bovine somatotropin and lactation: from basic science to comercial application. *Domest. Anim. Endocrinol.* v. 17, n.1, p. 101-116, 1999.
- BAUMAN, D.E.; DEGEETER, M.J.; PEEL, C.J.; LANZA, G.M.; GOREWIT, R.C.; HAMMOND, R.W. Effect of recombinant derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high yielding dairy cows. *J Dairy Sci.* v.65, p.121, 1982.
- BAUMAN, D.E.; EPPARD, P.J.; De GEETER, M.J.; LANZA, G.M. Responses of high producing dairy cows to long term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. *J Dairy Sci.* v.68, p.1352-1362, 1985.
- BAUMAN, D.E.; VERNON, R.G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annu. Rev. Nutr.* v. 13, p. 437-461, 1993.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. Diário Oficial da União, Brasília, 2006. p. 8.
- BREIER, B.H. Regulation of protein and energy metabolism by the somatotropic axis. *Domest. Anim. Endocrinol.* v.17, p.209-218, 1999.
- BURTON, J.L.; MCBRIDE, B.W.; BLOCK, E.; GLIMM, D.R.; KENNELLY, J.J. C. A review of bovine growth hormone. *Can. J. Anim. Sci.* v.74, p.167-201, 1994.
- BUTLER, L.J. The profitability of rBST on U.S. dairy farms. *AgBioForum*, v. 2, p. 111–117, 1999.
- CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. *Ci. Anim. Bras.* v. 8, n. 2, p. 241-249, 2007.
- CASTIGLIEGO, L.; LI, X.N.; ARMANI, A., GRIFONI, G.; BOSELLI, C.; ROSATI, R.; GIANFALDONI, D.; GUIDI, A. Hormone variations in serum and milk of buffaloes (*Bubalus bubalis*) as potential indicators of treatment with recombinant bovine somatotropin. *J.Dairy Sci.* v.78, p. 412–420, 2011.
- CENTNER, T.J.; LATHROP, K.W. Regulating the sale of products from cows treated with recombinant bovine somatotropin, *Choices.* v.4, p. 34–36, 1996.
- CERÓN-MUÑOZ, M. F., TONHATI, M., DUARTE, J. et al. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J.Dairy Sci.* v.85, p.2885- 2889, 2002.
- CHAIYABUTR, N.; KOMOLVANICH, S.; THAMMACHAROEN, S.; CHANPONGSANG, S. Effects of long-term exogenous bovine somatotropin on glucose metabolism and the utilization of glucose by the mammary gland in different stages of lactation of crossbred Holstein cattle. *J Anim Sci.* v.79, p.561–574, 2008a.

CHAIYABUTR, N.; THAMMACHAROEN, S.; KOMOLVANICH, S.; CHANPONGSANG, S. Effects of long-term administration of recombinant ovine somatotropin on the concentration of metabolites in milk in different stages of lactation in crossbred Holstein cattle. *J Anim Sci.* v. 79, p. 41–50, 2008b.

CHAIYABUTR, N.; THAMMACHAROEN, S.; KOMOLVANICH, S.; CHANPONGSANG, S. Effects of long term exogenous bovine somatotropin on nutrients uptake by the mammary glands of crossbred Holstein cattle in the Tropics. *Asian-Australas J Anim Sci.* v. 20, p. 1407–1416, 2007.

CHAIYABUTR, N.; THAMMACHAROEN, S.; KOMOLVANICH, S.; CHANPONGSANG, S. Effects of long-term administration of recombinant bovine somatotropin on milk production and plasma insulin-like growth factor and insulin in crossbred Holstein cows. *J. Agricultural Sci.* v.143, p.311–318, 2005.

COELHO, K.O., MACHADO, P.F., COLDEBELLA, A. et al. Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. *Cienc. Anim. Bras.* v.5, p.167-170, 2004.

COLLIER, R.J.; BYATT, J.C.; DENHAM, S.C.; EPPARD, P.J.; FABELLAR, A.C.; HINTZ, R.L.; MCGRATH, M.F.; MCLAUGHLIN, C.L.; SHEARER, J.K.; VEENHUIZEN, J.J.; VICINI, J.L. Effects of sustained release bovine somatotropina (sometribove) on animal health in commercial dairy herds. *J.Dairy Sci.* v. 84, p.1098–1108, 2001.

DAMÉ, M.C.F. et al. *Produção e Qualidade de Leite de Bubalinos no Rio Grande do Sul: dados preliminares*. Pelotas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado. 2011. 14p. ( Documento 296).

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

DESHMUKHI, B.T; NAGVEKAR, A.S.; TALVELKARJ, B.A.; DALVI, S.H.; CHINCHKAR, S.R. Effect of bovine somatotropin on blood serum minerals, thyroid hormones and reproductive performance of lactating crossbred cows. *Indian J. Anim. Sci.* v.71, n. 7, 663-666, 2001.

DOHOO, I.R.; DESCÔTEAUX, L.; LESLIE, K.; FREDEEN, A.; SHEWFELT, W.; PRESTON, A.; DOWLING, P. A meta-analysis review of the effects of recombinant and culling. *Can J Vet Res.* v.67, p.252-264, 2003.

DRACKLEY J.K., DANN H.M., DOUGLAS G.N., GURETZKY N.A.J., LITHERLAND N.B., UNDERWOOD J.P. & LOOR J.L. 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.* 4:323-344.

- DUNLAP, T.F.; KOHN, R.A.; DAHL, G.E.; VARNER, M.; ERDMAN, R.A. The impact of somatotropin, milking frequency, and photoperiod on dairy farm nutrient flows. *J.Dairy Sci.* v.83, p.968-976, 2000.
- ENRIGHT, W. J.; PRENDIVILLE, D. J.; SPICER, L. J.;STRICKER, P. R.; MOLONEY, A. P.; MOWLES, T.F.;CAMPBELL, R.M. Effects of growth hormone-releasing factor and thyrotropin-releasing hormone on growth, feed efficiency, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites in beef heifers. *J. Anim. Sci.* v. 71, p. 2395-2405, 1993.
- ESTEBAN, E.; KASS, P.H.; WEAVER, L.D.; ROWE, J.D.; HOLMBERG, C.A.; FRANTI, C.E.; TROUTT, H.F. Reproductive performance in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropina *J.Dairy Sci.* v. 77, n.11, p.3371-3381, 1994.
- ETHERTON, T.D.; BAUMAN, D.E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol Rev.* v. 78, p. 745–761, 1998.
- FECKINGHAUS, M.A. *Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rbST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação.* 2009. 89f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FERNANDEZ V.N.V.; ZANELA M.B. Desequilíbrio nutricional e composição do leite em uma unidade de produção situada na bacia leiteira central da Argentina. *Acta Sci. Vet.* v. 35, p. 363-366, 2007.
- FERREIRA, A.T.; SOUZA, J.C.; PEREIRA, M.N. et al. Influência da somatotropina bovina recombinante (rbst), aplicada um dia após o parto, sobre a produção de vacas da raça Holandês primíparas. *Ciênc. Agrotec.* p.1568-1574, 2002.
- FIGUEIREDO, E.L.; LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; TORO, M.J.U. Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “in natura” produzido no estado do Pará. *Rev. Bras. Tecn. Agroindustrial.* v.4, n.1, p.19-28. 2010.
- GOFF, J.P. Minerais. In: REECE, O.W. *Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos.* 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.532-540, 2006.
- GONÇALVES, A.C.S. *Avaliação dos resultados das contagens de células somáticas obtidas pelo equipamento Ekomilk Scan® e suas correlações com outros métodos de análise.* 2014.35f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jabotical-SP.
- GONSALVES NETO, J.; FERNANDES, S.A.A.; SILVA, F.F.; PEDREIRA, M.S. Uso de somatotropina bovina em búfalas: efeitos sobre a produção e composição do leite. *Rev. Eletrônica Nutritime.* v.6, n. 5, p.1056-1071, 2009.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. D. *Transtornos metabólicos nos animais domésticos.* 2ª. Porto Alegre, Brasil: UFRGS, 2014. 337.

- GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. *Arq. Fac.Vet. UFRGS, Porto Alegre*, v.25, n.2, 1997.
- GONZALEZ, F.H.D., ROCHA, J.A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, v. 26, p. 52-64, 1998.
- GONZALEZ, F.H.D.; SHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. *Anais. 29º Congresso de Medicina Veterinária: Gramado, RS. 2002.*
- GÜLAY, M.S.; HATIPOGLU, F.S. Use of Bovine Somatotropin in the Management of Transition Dairy Cows. *Turk J Vet Anim Sci.* v.29, p.571-580, 2005.
- HALDAR, A.; PRAKASH, B.S. Effect of exogenous growth-hormone-releasing factor on blood metabolites and minerals in late maturing buffalo heifers (*Bubalus bubalis*). *J Anim Physiol Anim Nutr.* v. 91, p. 326–332, 2007.
- HELAL, F.I.S., LASHEEN, M.A. The productive performance of egyptian dairy buffaloes receiving biosynthetic bovine somatotropin (rbST) with or without monensin. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* v.3, p.771-777, 2008.
- HERRERA, M.A.T.; PUENTE, E.O.R.; CALDERÓN, A.C.; REYES, L.A.; JOHN, T.H. Efectos de la inyección de somatotropina bovina sobre la producción y composición de la leche de vacas Holstein en lactancia muy tardía. *Biotecnia.* v.11, n. 1, p.34-41, 2009.
- HOLTENIUS, K.; AGENAS, S.; DELAVAUD, C.; CHILLIARD, Y. Effect of feeding intensity during the dry period. 2. metabolic and hormonal responses. *J. Dairy Sci.* v. 86, p. 883-891, 2003.
- HOUGHTON, P. L., LEMENAGER, R. P., HORSTMAN, L. et al. Effects of body composition, pre and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J Anim Sci.* v. 68, p. 1438-1446, 1990.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA-IBGE-Produção da pecuária municipal 2010, v.38, p.1-65, 2010.
- JABBAR, M.A.; AHMAD, I.; JAVID, S.; CHAUDHRY, M.A.; USMANI, R.H. Effect of bovine somatotropic hormone on the productive performance of Nili-Ravi buffaloes. *Italian J. Animal Sci.* v.6, p.1039-1042, 2007.
- JORGE, A.M., GOMES, M.I.F.V., HALT, R.C. Efeito da Utilização da Somatotropina recombinante bovina (bST) sobre a produção de leite em búfalas. *Rev Bras Zootec.* v.31, p.1230-1234, 2002.
- KACHIWAL, A.B.; SHEIKH, B.A.; SHEIKH, S.A.; QURESHI, T.A.; MEMON, K.H. Effect of rbST on Serum Biochemical Values During Various Physiological and Weather Conditions in Kundhi Buffaloes. *J. Buffalo Sci,* v.4, p.1-9, 2015.

- KHALIQ T, ZU RAHMAN, JAVED ,I. High dose of recombinant bovine somatotropin do alter serum biochemical and hormonal profiles of Nili Ravi buffaloes. *Pak Vet J.* v. 33, n.4, p. 476-480, 2013.
- KHAN, H.M.; MOHANTY, T.K.; BHAKAT, M et al. Relationship of Blood Metabolites with Reproductive Parameters during Various Seasons in Murrah Buffaloes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* v.24, n.9, p.1192-1198, 2011.
- KHATTAB, H.M.M.; EL-SAVED, H.M.; ABO EL-NOR, S.A.H.; EL-ALAMY, H.A.; ABD EL-GAWAD, R.M.A. Impact of Bovine Somatotropin and Monensin on the Productive Performance of Egyptian Dairy Buffaloes. *J.Dairy Sci.* v.3, n.1, p.11-19, 2008.
- KOZICKI, L.E.; SEGUI, M.S.; FANTINI FILHO, J.C.; PRADO, F.R.A.; MATTE, F.; GLASER JR, P.; WEISS, R.R. A somatotropina bovina (bst) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. *Arch. Vet. Sci.* v.10, n.1, p.35-44, 2005.
- LAGO, E. P.; COSTA, A. P. D.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; FARÍAS, V. P.; DO LAGO, L. A. Pa-râmetros metabólicos em vacas leiteiras duran-te o período de transição pós-parto. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v. 11, p. 98-103, 2004.
- LANNA, D.P.D.; HOUSEKNECHT, K.L.; HARRIS, D.M.; BAUMAN, D.E. Effects of somatotropin treatment on lipogenesis, lipolysis, and related cellular mechanisms in adipose tissue of lactating cows. *J.Dairy Sci.* v. 78, n. 8, p.1703-1712, 1995.
- LIMA, T.C.C.; RANGEL, A.H.N.; MACÊDO, C.S. et al. Composição e Qualidade do Leite e do Soro do Leite de Búfalas no Estado do Rio Grande do Norte. *Acta Vet. Brasilica.* v.8, n.1, p.25-30, 2014.
- LUCENA, J.A. *Efeitos da somatotropina recombinante bovina (bst), da raça e da alimentação sobre a produção e a qualidade do leite de cabra na região nordeste do Brasil.* 2003. 118f. Tese (Doutorado em Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- MACEDO, M.P., WECHSLER, F.S., RAMOS, A.A. et al. Composição físico-química e produção de leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. *Rev Bras Zootec.* v.30, p. 1084-1088, 2001.
- MANDALI, G. C., P. R. PATEL, A. J. DHAMI, S. K. RAWAL AND K. S. CHRISTI. 2002. Biochemical profile in buffaloes with periparturient reproductive and metabolic disorders. *Indian J. Anim. Reprod.* 23(2):130-134.
- MATTOS, W. Somatotropina na pecuária de leite e de corte. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35, 1998, Botucatu. Anais...Botucatu, p.35-52, 1998.
- MELO, W. O. ; VIANA, R. B. ; MONTEIRO, B. M. ; CHAVES, L. C. S. ; SANTOS, E. R. D. ; SOUZA, D. C. ; NASCIMENTO JUNIOR, A. S. ; AMORIM, B. S. ; LEO, A. P. ; CAMPELLO, C. C. ; BRAGANÇA, G.M; FARIA JUNIOR, S. P. . Produção e composição do leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina no pico de lactação. *Acta Vet. Brasilica.* v. 7, p. 218-228, 2013.



- MISHRA, A.; SHUKLA. Effect of Recombinant Bovine Somatotropin (Boostin-250) on Blood Metabolites and Milk Yield of Lactating Buffaloes. *Asian-Australas J Anim Sci*, v.17, n.9, p.1232-1235, 2004.
- MONTEIRO, B.M.; YASUOKA, M.M.; POGLIANI, C.; AYRES, H.; VIANA, R.B.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Lipid and glucose profiles of dairy buffaloes. *Rev. Cienc. Agrar.* v. 55, n. 1, p. 33-39, 2012.
- MORAES JUNIOR, F.J. *Efeito da somatotropina recombinante bovina (rbST) na resposta ovulatória e na qualidade dos embriões de vacas da raça Nelore*. 52 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.
- MOREIRA, T.F.; ZAMBRANO, J.U.; PAULA, V.M.; CASAGRANDE, F.P.; FACURY FILHO, E.J.; MOLINA, L.R.; LEME, F.O.P.; CARVALHO, A.U. Perfil mineral de vacas mestiças Girolanda no período de transição em sistema semi-intensivo em duas estações do ano. *Pesq. Vet. Bras.* v.35, n.3, p. 249-257, 2015.
- NASCIMENTO, J.C.S.; SILVA, T.G.P.; RIZZO, H.; FONSECA FILHO, L.B.; SOARES, L.L.S.; SOUZA, W.M.A.; AMORIM, M.J.A.A.L. Indicadores bioquímicos e corporais para avaliação do perfil metabólico e nutricional em ruminantes. *Ciênc. Vet. Tróp.* v.19, n 3, 2016.
- NERES, L.S.; PACHECO, E.A.; COSTA, V.V.L.; LIMA, S.C.G.; NAHÚM, B.S.; GARCIA, A.R. Qualidade do requeijão cremoso de leite de búfalas suplementadas com subprodutos agroindustriais, em Belém, Pará. *Rev. Inst. laticínios Cândido Tostes.* v. 68, n. 391, p. 24-31, 2013.
- PEEL, C.J.; BAUMAN, D.E. Somatotropin and lactation. *J. Dairy Sci.*v.70, n.2, p.474-486, 1987.
- PEIXOTO, L.A.O.; OSÓRIO, M.T.M. Perfil metabólico protéico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. *Ver. Bras. de Agrociência*, v. 13, n. 3, p. 299-304, 2007.
- PESSOA, J.S. et al. Perfil físico-químico do leite em diferentes fases da lactação de búfalas (*Bubalus bubalis*) jovens mantidas a pasto. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 48., 2011, Belém. Anais...Belém: [s.n] 2011.p.1-3.
- PINTO, A.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FERNANDEZ, V.N.V.; SANTOS, J.O. Correlação entre os métodos infravermelho e ultra-som na determinação da composição química do leite das vacas do concurso leiteiro da Expointer 2007. *Acta Sci. Vet.* v.36, n.3, p. 273-276, 2008.
- PIVATO, I. 2005. Aspiração Folicular em Bovinos-Efeito do bST. In: Workshop de Reprodução Animal. 02: 61-76.
- PONSANO, E.G.H.; PERRI, S.H.V.; MADUREIRA, F.C.P.; PAULINO, R.Z.; CAMOSSO, L.G. Correlação entre métodos tradicionais e espectroscopia de ultra-som na determinação de

características físico-químicas do leite. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.59, n.4, p.1052-1057, 2007.

PRADO, I.N.; NASCIMENTO, W.G.; NEGRÃO, J.A.; RIGOLON, L.P.; SCHILLER, S.S.; SAKUNO, M.L.D.; PESSINI, G.L. Somatotropina bovina recombinante (rBST) nos aspectos hematológicos e metabólitos do sangue de novilhas (½ Nelore x ½ Red Angus) em confinamento. *Rev. Bras. Zootec.* v.32, n.2, p.465-472, 2003.

PRASAD, J.; SINGH, M. Milk production and hormonal changes in Murrah buffaloes administered recombinant bovine somatotropin (rBST). *Agric. Biol. J. N. Am.*, v.1, p. 1325-1327, 2010.

PUTNAM, D.E., VARGA, G.A., GREEN, M.H. Glucose kinetic responses to protein supplementation and exogenous somatotropin in late gestation dairy cows. *J.Dairy Sci.*v.82, n.6, p.1274-1281, 1999.

RANGEL, A.H.N., DIVINO, M.R., LEONEL, F.P., LIMA JÚNIOR, D.M. Somatotropina na pecuária de leite. *Pubvet*, v. 2, n. 22, p. 1982-1263, 2008.

REIST, M.; ERDIN, D. K.; VONEUW, D.; TSCHUEMPERLIN, K.; LEUENBERGER, H.; CHILLIARD, Y.; HAMMON, H.M.; MOREL, C.; PHILIPONA, C.; ZBINDEN, Y.; KUENZI, N.; BLUM, J.W. Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J.Dairy Sci.* v. 85, p. 3314-3327, 2002.

RENAVILLE, R.; HAMMADI, M.; PORTETELLE, D. Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism. *Dom. Anim. Endocrinol.* v.23, 2002, p.351-360.

RENNÓ NETO, B.P. *Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) na função hepática, renal e no lipidograma de bovinos da raça holandesa em lactação.* 116 f. 2004. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RODRIGUES, M. *Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a Produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa.* 80 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

ROSOL, T. J. & CAPEN, C. C., Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. p. 619-702, In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5ª ed., 932 p. Academic Press, 1997.

RUAS, J.R.M.; TORRES, C.A.A.; BORGES, L.E. MARCATTI NETO, A.; MACHADO, G.V. Efeito da suplementação proteica a pasto sobre eficiência reprodutiva e concentrações sanguíneas de colesterol, glicose e uréia, em vacas Nelore. *Rev. Bras. de Zootec.* v.29, n.6, p.2043-2050, 2000.

- SANDLES, L.D.; SUN, Y.X.; D'CRUZ, A.G.C.; MCDOWELL, G.H.; GOODEN, J.M. Responses of lactating ewes to exogenous growth hormone: short and long-term effects on productivity and tissue utilization of key metabolites. *Aust J Biol Sci.* v.41, p.357–370, 1988.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. da. 2007. Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 314p.
- SANTOS, R.A.; TEIXEIRA, J.C.; ABREU, L.R.; MUNIZ, J.A.; DERESZ, F. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rBST) na produção e composição do leite. *Ciênc. Agrotec.* v.25, n.6, p.1435-1445, 2001.
- SHAHID, R.; QURESHI, Z.I.; LODHI, L.A.; RAHMAN, Z.U. Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) and oxytocin on health biomarkers, reproductive performance and milk composition of nili-ravi buffaloes (*Bubalus bubalis*) during spring and summer seasons. *Pak. J. Agri. Sci.* v. 53, n.4, p. 985-990, 2016.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C.Q. 2002. Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa, MG, editora UFV, 235p. SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C.Q. 2002. Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa, MG, editora UFV, 235p.
- SILVA, S. M. A. S. et al. Impacto da exploração madeireira em floresta de terra firme no município de Moju, estado do Pará. In: SILVA, J. N. M; CARVALHO, J. O. P.; YARED, J. A. G. (Eds.). A silvicultura na Amazônia Oriental: contribuições do projeto Embrapa/DFID. Belém: Embrapa Amazônia Oriental - DFID, 2001. p. 227 – 251.
- SILVEIRA, T.M.L.et al.. Comparação entre os métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.56, n.6, p.782-787, 2004.
- SOUZA, N.H; FRANZOLIN, R.; SOARES, W. V. B. Metabolismo mineral em bubalinos com ingestões de diferentes níveis de fósforo. *R. Bras. Zootec.* v. 38, n. 6, p. 1149-1154, 2009.
- SRINIVASA-RAO, K.; RANGANADHAM, M. Effect of bovine somatotropin on milk production and composition in lactating Murrah buffaloes. *Indian J. of Dairy Sci.* v.53, n.1, p.46-50, 2000.
- STELWAGEN, K.; GRIEVE, D.G.; McBRIDE, B.W.; REHMAN, J.D. Growth and subsequent lactation in primigravid Holsteins heifers after prepartum bovine somatotropin treatment. *J.Dairy Sci.*v.75, n.2, p.463-471, 1992.
- TARAZON-HERRERA, M.A., HUBER, J.T., SANTOS, J.E.P. et al. Effects of bovine somatotropin on milk yield and composition in Holstein cows in advanced lactation fed low or high energy diets. *J.Dairy Sci.* v.83, p. 430-434, 2000.
- VARGAS, A.; OSORIO, C.A.; LOAIZA, J.; VILLA, N.A.; CEBALLOS, A. Efecto del uso de una somatotropina bovina recombinante (STbr) en vacas lecheras a pastoreo bajo condiciones tropicales. *Arch Med Vet.* v.38, n. 1, 2006.

VELLOSO L. Evolução e tendências da pecuária bovina de corte no Brasil. In: Produção do novilho de corte. Anais do 4º Simpósio sobre pecuária e corte. p.1-40. FEALQ, Piracicaba-SP, 2000.

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

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; NOOMEN, A.; JELLEMA; VAN BOEKEL, M.A.J.S. Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p

**ANEXOS**

## ANEXO I



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Desempenho produtivo e determinação de constituintes bioquímicos e eletrólitos séricos de búfalas leiteiras em resposta à aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST)**", registrada com o nº de protocolo **021/2016 (CEUA) e 23084.006670/2016-28 (UFRA)**, sob a responsabilidade do **Prof. Dra. Rinaldo Batista Viana** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, Subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal Rural da Amazônia, em reunião de **29/06/2016**.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	29/06/2016 a 16/04/2017
Espécie/linhagem/raça	<i>Bubalus Bubalis</i> Búfalo / Murrah e mestiço Murrah x Mediterrâneo
Nº de animais	30
Peso/Idade	400kg / 03 a 06 anos
Sexo	fêmeas
Origem	Fazenda no Nordeste Paraense

Belém, 29 de junho de 2016.

Profª Maria Cristina Manno  
Coordenadora CEUA UFRA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA  
Av. Tancredo Neves, nº 2501, Bairro Montese, Belém – PA. CEP: 66.077-901  
Contatos: (13)210-5165 [ceua@ufra.edu.br](mailto:ceua@ufra.edu.br) [www.comissao.ufra.edu.br/ceua](http://www.comissao.ufra.edu.br/ceua)



## ANEXO II

Ciência Rural, Santa Maria, v.48: 02, e20170447, 2018

<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478r20170447>ISSNe 1678-4596  
FOOD TECHNOLOGY**Ultrasound spectroscopy as an alternative method to measure the physical-chemical constituents of buffalo milk****Waldjânio de Oliveira Melo<sup>1\*</sup> Bruno Moura Monteiro<sup>2</sup> Luciara Celi da Silva Chaves<sup>3</sup>  
Eduardo Riodades Daher Santos<sup>4</sup> Damazio Campos de Souza<sup>5</sup> Bianca Souza de Amorim<sup>3</sup>  
Sebastião Pereira de Faria Junior<sup>6</sup> José Dantas Ribeiro Filho<sup>7</sup> Cristian Faturi<sup>1</sup>  
Rinaldo Batista Viana<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia (Ufrra), 68625-970, Paragominas, PA, Brasil. E-mail: waldjanio@zootecnista.com.br.

\*Corresponding author.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.<sup>3</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia (Ufrra), Belém, PA, Brasil.<sup>4</sup>Zootecnista autônomo, Paragominas, PA, Brasil.<sup>5</sup>Universidade Estadual de São Paulo (Unesp), Jaboticabal, SP, Brasil.<sup>6</sup>Livestock Technical Manager, MSD Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil.<sup>7</sup>Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil.

**ABSTRACT:** This study aimed to use ultrasound spectroscopy for the determination of the physical-chemical characteristics of buffalo milk and compare it to the infrared method. Levels of fat, protein, lactose and non-fat solids (NFS) were determined in milk samples of 22 buffaloes ( $n = 383$ ) with initial milk production of  $6.97 \pm 1.55$  litres. The respective average results for the fat, protein, lactose and NFS of the individual samples were 6.31%, 3.81%, 4.99% and 9.75% for the infrared method-PO ANA 009 and 7.16%, 2.5%, 6.28% and 9.41% using ultrasound spectroscopy. There were significant differences ( $P < 0.0001$ ) in the levels of all of the components analysed between the two methods studied. Results obtained in the analyses using the ultrasonic milk analyser (Ekomilk Total<sup>®</sup>) were different from those obtained by the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ), but they showed a high positive correlation for fat ( $r = 0.84108$ ,  $P < 0.0001$ ), moderate correlation for NFS ( $r = 0.71284$ ,  $P = 0.0022$ ), low correlation for lactose ( $r = 0.32197$ ;  $P < 0.0001$ ) and the absence of correlation for protein ( $r = -0.00284$ ,  $P < 0.0001$ ). Therefore, ultrasound spectroscopy can be used for the determination of fat. For the other constituents of buffalo milk, in order to use the ultrasonic analyser, it is suggested that further studies should be conducted for technical and methodological adjustments.

**Key words:** buffaloes, milk composition, fat, protein, infrared.

**Espectroscopia de ultrassom como método alternativo para a determinação das características físico-químicas do leite de búfalas**

**RESUMO:** Objetivou-se com este trabalho o uso da espectroscopia de ultrassom para a determinação das características físico-químicas do leite de búfalas frente ao método infravermelho. As características de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD) foram determinadas em amostras de leite de 22 búfalas ( $n=383$ ) com produção inicial de leite  $6,97 \pm 1,55$  litros. A média dos resultados para gordura, proteína, lactose e ESD das amostras individuais foram, respectivamente, 6,31%, 3,81%, 4,99% e 9,75% para o método infravermelho-PO ANA 009 e 7,16%, 2,5%, 6,28% e 9,41%, usando-se espectroscopia de ultrassom. Houve diferença significativa ( $P < 0,0001$ ) entre os teores de todos os componentes analisados entre os dois métodos estudados. Os resultados obtidos nas análises com o método utilizando analisador ultrassônico de leite (Ekomilk Total<sup>®</sup>) foram diferentes daqueles feitos por infravermelho-PO ANA 009 (ESALQ), porém, apresentaram correlação positiva alta para gordura ( $r = 0,84108$ ;  $P < 0,0001$ ), moderada para ESD ( $r = 0,71284$ ;  $P = 0,0022$ ), baixa para lactose ( $r = 0,32197$ ;  $P < 0,0001$ ) e ausente para proteína ( $r = -0,00284$ ;  $P < 0,0001$ ), podendo, portanto, ser utilizado para determinação de gordura. Para os demais constituintes do leite de búfalas sugere-se, que para a utilização do analisador ultrassônico, mais estudos para ajustes técnicos e metodológicos sejam feitos.

**Palavras-chave:** Búfalas, composição do leite, gordura, proteína, infravermelho.

**INTRODUCTION**

The quality of milk can be determined by physical, chemical, microbiological and sensory analyses as well as hygiene tests. For this purpose, there are several official methods available, as determined by the current legislation, which are performed by the Brazilian Network

of Laboratories for Milk Quality Control. Such methods include the infrared method-PO ANA 009 (BRASIL, 2006). Although, easy to carry out, official tests often require specific forms of preservation and expensive analytical reagents and can be time-consuming depending on the distance between the farm and the accredited laboratory (GONÇALVES, 2014).

A method that is increasingly applied in the industry for the analysis and modification of food is ultrasound spectroscopy, which is based on the principle of sound absorption changing the frequency of the sample particles. It presents advantages over the traditional methods as it precludes the need for the preparation of the samples, uses minimum volumes of the samples in a non-destructive way, precluding the need to use specific chemical reagents or glassware and produces results in only a few minutes (PONSANO et al., 2007). It has already been demonstrated in cattle that it is possible to determine the constituents of milk, both at the farm and at the dairy fair, allowing problems to be solved that require an immediate decision or to define the industrial destination of raw material (PINTO et al., 2008).

Despite the advantages of ultrasound spectroscopy as an alternative technique for the evaluation of milk constituents, it is worth mentioning that both the calibration tests of the devices and the comparative studies between the techniques were performed only using bovine milk (PONSANO et al., 2007; PINTO et al., 2008), and there is no study in the literature comparing them in buffalo milk, which has a different composition from that of bovine milk (AMARAL et al., 2005). Thus, the need for studies to develop automated analytical procedures, which are quick, accurate and of lower cost, for the analysis of the constituents of buffalo milk is evident.

Therefore, the aim of the present study was to compare the physical-chemical parameters of buffalo milk obtained by the infrared method-PO ANA 009 as well as an ultrasonic milk analyser (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria) and to identify which buffalo milk constituents may be determined using ultrasound spectroscopy.

## MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted at a farm located in the municipality of Mojú (1°54'14.33"S; 48°46'07.53"W), a mesoregion of the northeastern region of Pará state, Brazil. The climate of the region is characterized as Am (hot and humid) according to the Köppen-Geiger climate classification, with an annual average temperature between 25 and 27°C and annual precipitation between 2,000 and 3,000 mm/m<sup>2</sup> with an irregular distribution. The relative air humidity is approximately of 85% (SILVA et al., 2001).

Individual milk samples were collected for 11 weeks (n = 383) from 22 adult buffaloes of similar genetic groups, mostly Murrah (*Bubalus*

*bubalis*) or crossbred (with genetic predominance of the Murrah breed) lactating buffaloes. All buffaloes were multiparous with a mean of 66 ± 1.74 days in lactation (DIL) and a production of 6.97 ± 1.55 litres of milk per day at the beginning of the study. Animals were kept under a rotational stocking system on *Urochloa (Brachiaria) humidicola*, *Urochloa (Brachiaria) brizantha* and *Panicum maximum cv. Mombasa* pastures, receiving water and mineral salt *ad libitum*. In addition to pastures, the lactating buffaloes received 1.0 kg of feed/day, composed of 30.61% murumuru cake (*Astrocaryum murumuru*), 61.29% maize meal (*Zea mays*), 3.1% mineral mix and 5% urea. The bromatological composition of the diet was 93.02% dry matter (DM), 8.41% mineral matter (%), 18.17% crude protein (CP), 3.15% ether extract (EE), 23.9% neutral detergent fibre (NDF) and 10.96% acid detergent fibre (FDA), with results obtained using the methodology described by SILVA & QUEIROZ (2002).

The buffaloes were milked manually twice a day with an average interval of 12 hours between milking. The control of milk production was carried out weekly, with complete emptying of the udder 12 hours before the intervals of 63-70; 70-77; 77-84; 84-91; 91-98; 98-105; 105-112; 112-119; 119-126; 133-140; and 147-154 days in lactation. On the same day of the milk control, always at the end of each milking and after the homogenization of the total milk, the samples were collected to determine the physical-chemical composition of the milk for the comparison between the analysis methods.

Of the total milked milk, aliquots of the sample were placed in sterile (labelled) 50 mL vials containing microtablets of bronopol-based preservatives and stored in thermal boxes containing ice packs. Samples were then sent to the Luis de Queiroz College of Agriculture (ESALQ/USP), in Piracicaba - São Paulo State, accredited by the Brazilian Network for Milk Quality Control of the Ministry of Livestock and Food Supply (RBQL/MAPA), for the determination of fat, protein, lactose and non-fat solids (NFS) by the infrared method-PO ANA 009 according to the collection, preservation and evaluation recommendations of the laboratory.

Other aliquots of the milk sample were placed in sterile (labelled) preservative-free 75 mL bottles and stored in thermal boxes containing ice packs. Within a maximum of 24 hours, these samples were analysed in the food analysis laboratory of the Federal Rural University of the Amazon - Ufra (Belém - Pará state) for the determination of fat, protein, lactose and NFS using ultrasound spectroscopy (EKOMILK



total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) following the manufacturer's recommendations.

The descriptive statistics of the data, represented by the means, standard error of the means (SEMs) and the minimum as well as maximum values for each variable were obtained through the *MEANS* procedure of SAS version 9.3 (SAS/STAT, SAS Institute Inc., Cary, NC). Comparison between the means of the groups was performed by analysis of variance (ANOVA) using the *LSMeans (Least Square Means)/PDIFF ILINK LINES* command from SAS. To assess the correlation between the variables analysed by infrared method-PO ANA 009 and ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria), the *CORR RANK* procedure from SAS was used.

To estimate the milk constituents, such as fat, protein, lactose and NFS, the infrared method-OP ANA 009 (ESALQ) and the ultrasonic analyser (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) were used. The data were tested by means of regression analysis with the *GLM* procedure from SAS, using the least squares method for simple non-polynomial regression. For the calculation of the regressions and Pearson's correlations, the coefficients of determination ( $R^2$ ) of  $\geq 0.70$ ,  $\geq 0.50$  and  $< 0.50$  as well as correlation coefficients of ( $r$ )  $\geq 0.80$ ,  $\geq 0.70$  and  $< 0.70$  were considered high, moderate and low, respectively. The  $P$  value was considered significant when  $\leq 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The mean, standard error and minimum and maximum values obtained for the buffalo milk constituents by the different methods are presented in table 1. Additionally, using the infrared method-PO ANA 009 of the Milk Clinic-ESALQ/USP, NERES et al. (2013) reported mean values of  $6.9 \pm 1.5\%$  fat,  $5.1 \pm 0.3\%$  protein,  $5.0 \pm 0.4\%$  lactose and  $10.9 \pm 0.8\%$  NFS, while LIMA et al. (2014) observed mean values of  $5.44\%$  fat,  $4.24\%$  protein and  $4.77\%$  lactose in buffalo milk. Thus, the lower level of milk protein obtained in the present study was the only variable that did not present similar behaviour to the studies by NERES et al. (2013) and LIMA et al. (2014).

In relation to the results obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK), in the present study, the mean values were different from those reported by PESSOA et al. (2011) in buffaloes, in which mean values of  $5.4 \pm 2.1\%$  fat,  $5.2 \pm 0.3\%$  protein,  $5.1 \pm 0.6\%$  lactose and  $11.1 \pm 1.0\%$  NFS were found.

Differences in milk composition are caused by the effects of environmental factors, such as the season and nutrition, as well as animal-related factors, such as the breed, age and lactation stage (AMARAL et al., 2005). Milk components (fat, protein, lactose and NFS) may vary according to the nutrition, season and animal-related effects, such as the age, breed and stage of lactation (DAMÉ et al., 2011), which explains the differences observed between some of the buffalo milk constituents in several studies.

Table 1- Mean values, standard errors of the mean, minimum and maximum values of the production variables and physical-chemical analysis of buffalo milk obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total<sup>®</sup>, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ/USP).

Variables	Mean	SEM	Minimum	Maximum
Number of milk samples			383	
Milk production per day, kg	3.39	0.07	0.10	10.10
			Infrared	
Fat%	6.31	0.07	2.31	14.75
Protein%	3.81	0.02	2.58	4.81
Lactose %	4.99	0.01	3.26	5.57
NFS %	9.75	0.02	7.53	10.83
			Ultrasound	
Fat%	7.16	0.07	3.10	12.90
Protein%	2.51	0.05	1.52	12.48
Lactose%	6.28	0.02	2.60	7.10
NFS %	9.41	0.02	7.66	10.80

NFS: non-fat solids

There were significant differences between the levels of fat, protein, lactose and NFS ( $P < 0.0001$ ) for the ultrasound spectroscopy analysis compared to the infrared method used by reference laboratories (RBQL/MAPA). In a similar research; however, with milk samples from nine Holstein cows, PINTO et al. (2008) reported significant differences between the levels of fat ( $P = 0.0001$ ) and NFS ( $P = 0.0001$ ) when comparing the ultrasonic and infrared methods but without any differences for the protein content ( $P = 0.1782$ ). According to the authors, the differences between the fat and NFS levels of the milk found between the two methods used are possibly due to differences in the calibration of the two devices.

The correlation results between the fat, protein, lactose and NFS of buffalo milk obtained by ultrasound spectroscopy compared with the infrared method are presented in table 2. Figure 1 shows the dispersion, regression equation and respective coefficient of determination for the fat, protein, lactose and NFS percentages obtained by the infrared method-PO ANA 009 or ultrasonic milk analyser (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria). In a similar study, PINTO et al. (2008) reported a positive and significant correlation for the levels of fat ( $r = 0.98$ ,  $P = 0.0001$ ) and NFS ( $r = 0.85$ ,  $P = 0.0041$ ) obtained with the two methods studied. However, unlike the results of the present study, these authors reported a positive correlation for the protein level ( $r = 0.83$ ,  $P = 0.0051$ ).

A high correlation coefficient was reported only for the fat concentration, and a moderate correlation was found for the NFS portion between the two evaluated methods, unlike some studies

(PINTO et al., 2007; SILVEIRA et al., 2004) that compared the ultrasonic analyser with other methods of milk analysis. The results obtained in the analyses using the ultrasonic milk analyser (Ekomilk Total®) were different from those obtained by infrared method-PO ANA 009 (ESALQ) but showed a high positive correlation for fat ( $r = 0.84108$ ,  $P < 0.0001$ ), a moderate correlation for NFS ( $r = 0.71284$ ,  $P = 0.0022$ ), a low correlation for lactose ( $r = 0.32197$ ;  $P < 0.0001$ ) and the absence of correlation for protein ( $r = -0.00284$ ,  $P < 0.0001$ ); and therefore, ultrasound spectroscopy can be used for fat determination.

The differences between results of the determination of protein, lactose and NFS levels of milk for the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ) and ultrasonic milk analyser (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria) is possibly due to differences in calibration between the two devices, use of preservatives and time between the collection and samples analysis.

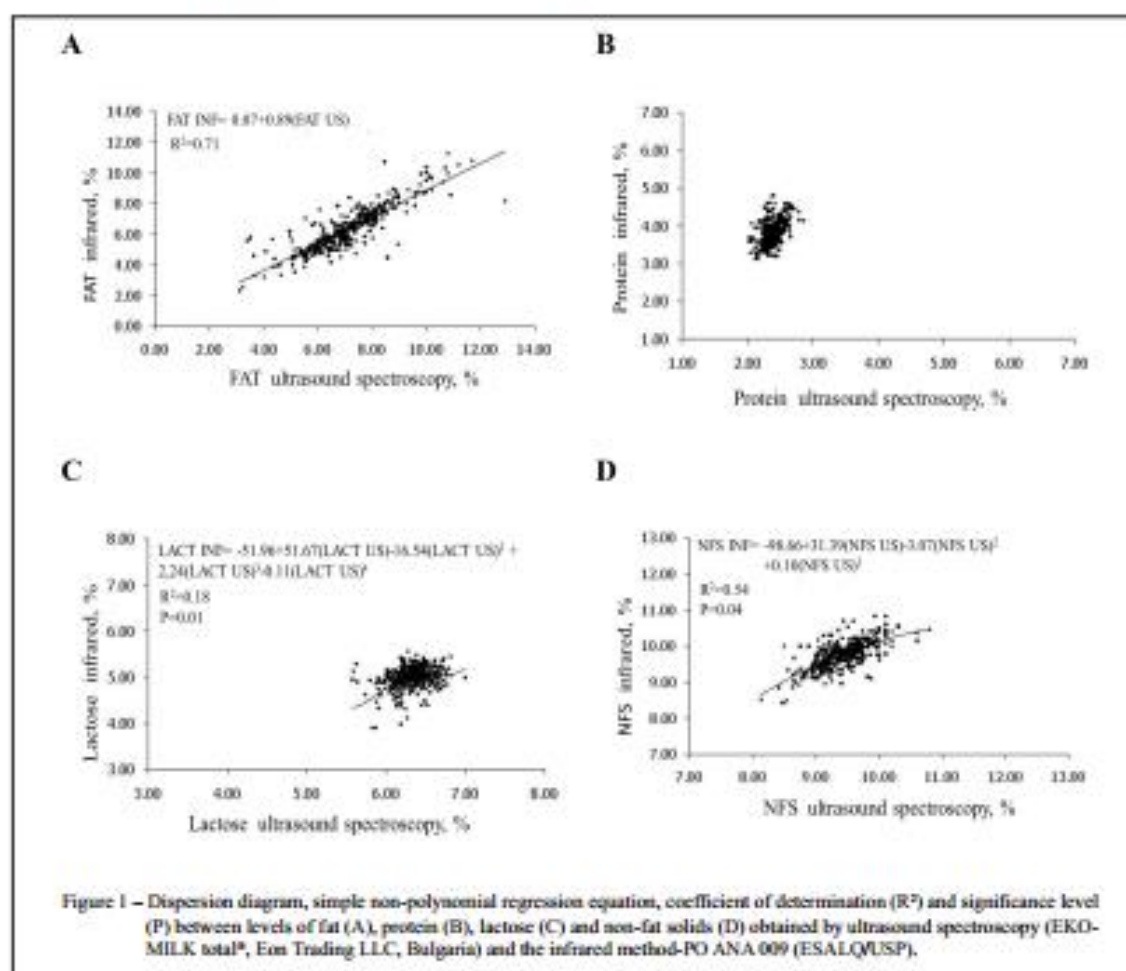
## CONCLUSION

Despite the advantages of ultrasound spectroscopy as an alternative technique for the evaluation of buffalo milk constituents, it is a safe method only for the determination of fat levels. However, for the other constituents, more research is required, as there are still few studies evaluating the influence of the factors that affect buffalo milk analysis on both methods, and technical as well as methodological adjustments such as conservation methods, whether or not to use preservatives, temperature and the time of sample collection and processing are also needed.

Table 2 - Correlation coefficients and significance levels between levels of fat, protein, lactose and NFS obtained by ultrasound spectroscopy (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria) and the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ/USP).

Variables	Variables				
		Fat**	Protein**	Lactose**	NFS**
Fat*	R	0.84108	-0.0152	-0.22730	-0.17666
	P	<0.0001	0.0744	<0.0001	<0.0001
Protein*	R	0.29428	-0.00284	0.26035	0.38036
	P	<0.0001	0.9559	<0.0001	<0.0001
Lactose*	r	-0.15890	0.12280	0.32197	0.42075
	P	<0.0001	0.0165	<0.0001	<0.0001
NFS*	r	0.15649	0.05909	0.42696	0.71284
	P	0.0022	0.2499	<0.0001	<0.0001

P values <0.05 were considered significant. \* Analyses performed by the infrared method-PO ANA 009 (ESALQ). \*\* Analyses performed using the ultrasonic milk analyser (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgaria). NFS: non-fat solids.



## ETHICS AND BIOSAFETY COMMITTEE

The experiment was approved by the Ethics Committee on Animal Use of Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Protocol 021/2016 (CEUA)-23084.006670/2016-28 (UFRA), which confirmed that all the requirements of Federal Law 11.794/08 (Arouca Law) were complied with, as were the Ethical Principles of Animal Experimentation of Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

## REFERENCES

AMARAL, F. R. et al. Buffaloes milk quality: components. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. V.29, n.2, p.106-110, 2005. Available from: <<http://www.cbza.org.br/pages/publicacoes/tribal/download/RE022.pdf>> Accessed: 17 Jun. 2017.

BRASIL. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com

o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União, Brasília, 2006*. p. 8.

DAMÉ, M.C.F. et al. *Produção e Qualidade de Leite de Bubalinos no Rio Grande do Sul: dados preliminares*. Pelotas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado, 2011. 14p. (Documento 296).

GONÇALVES, A.C.S. *Avaliação dos resultados das contagens de células somáticas obtidas pelo equipamento Ekomilk Scan® e suas correlações com outros métodos de análise*. 2014.35f. Dissertation (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP.

LIMA, T.C.C.; RANGEL, A.H.N.; MACÉDO, C.S. et al. Composition and quality of milk and whey buffalo in Rio Grande do Norte state. *Acta Veterinária Brasílica*. v.8, n.1, p.25-30, 2014. Available from: <<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/5322/5392>>. Accessed: mar. 03, 2017. doi: 10.21708/avb.2014.8.1.3321.

- NERES, L.S. et al. Quality of creamy queijo cheese of buffalo milk supplemented with byproducts agribusiness, Belém, Para State, Brazil. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*. v. 68, n. 391, p. 24-31, 2013. Available from: <<https://ilct.emnuvens.com.br/ilect/article/view/18/19>>. Accessed: mar. 03, 2017.
- PESSOA, J.S. et al. Physicochemical characteristics of milk during different stages of lactation of water buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers raised on pasture. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 48., 2011, Belém. Anais... Belém: [s.n.] 2011.p.1-3.
- PINTO, A.T. et al. Correlation between infra-red and ultrasound methods to evaluate milk composition in milk contestat EXPOINTER 2007. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.36, n.3, p. 273-276, 2008. Available from: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/20719/000681368.pdf?sequence=1>> . Accessed: mar. 04, 2017.
- PONSANO, E.G.H. et al. Correlation between traditional methods and ultrasonic spectroscopy for measurement of milk physical-chemical characteristics. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.4, p.1052-1057, 2007. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/abmv/v59n4/35.pdf>>. Accessed: 02 de fev.2017. doi: 10.1590/S0102-09352007000400035.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C.Q. *Análise de Alimentos: Métodos químicos e biológicos*. 3 ed. Viçosa, MG, editora UFV, 235p. 2002.
- SILVA, S. M. A. S. et al. Impacto da exploração madeireira em floresta de terra firme no município de Moju, estado do Pará. In: SILVA, J. N. M.; CARVALHO, J. O. P.; YARED, J. A. G. (Eds.). *A silvicultura na Amazônia Oriental: contribuições do projeto Embrapa/DFID*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental - DFID, 2001. p. 227 – 251.
- SILVEIRA, T.M.L. et al. Comparison between standard methods and electronic analyses for measurement of the bovine milk composition. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.6, p.782-787, 2004. Available from: <<https://doi.org/article/656253b2769846e1abbca7fe03fb5a/>>. Accessed: mar. 05, 2017. doi: 10.1590/S0102-09352004000600013.

## ANEXO III

*Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*

**Uso da somatotropina recombinante bovina em búfalas leiteiras I: produção e composição físico-química do leite**

*[Use of recombinant bovine somatotropin (rbST) in dairy buffaloes I: production and physicochemical composition of milk]*

W.O. Melo<sup>1</sup>, B.M. Monteiro<sup>2</sup>, L.C.S. Chaves<sup>3</sup>, E.R.D. Santos<sup>4</sup>, A.P. Leão<sup>3</sup>, G.M. Bragança<sup>5</sup>, C. Faturi<sup>3</sup>, J.D. Ribeiro Filho<sup>6</sup>, S.P. Faria Júnior<sup>7</sup>, R.B. Viana<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia - Paragominas, PA

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo - São Paulo, SP

<sup>3</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia - Belém, PA

<sup>4</sup>Zootecnista autônomo

<sup>5</sup>Universidade Federal Fluminense - Niterói, RJ

<sup>6</sup>Universidade Federal de Viçosa - Viçosa, MG

<sup>7</sup>Livestock Technical Manager - MSD Saúde Animal - São Paulo, SP

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a produção e os constituintes do leite de búfalas entre 63 e 154 em lactação. Foram utilizadas 22 búfalas, distribuídas em dois grupos experimentais: grupo rbST - aplicação de 500mg de rbST a cada 14 dias; grupo controle - sem aplicação de rbST. A cada sete dias, foi aferida a produção de leite de todas as búfalas e coletada uma amostra para análise físico-química. As variáveis produtivas e as oriundas de análises laboratoriais foram avaliadas como medidas repetidas no tempo, utilizando-se o comando *Repeated* gerado pelo procedimento GLM do SAS. A média dos parâmetros estudados para os grupos rbST e controle foram, respectivamente: produção de leite - 6,54 vs. 6,68kg; gordura - 6,31 vs. 6,34%; proteína 3,86 vs. 3,81%; lactose - 4,96 vs. 5,02%; sólidos totais - 16,05 vs. 16,03%; extrato seco desengordurado - 9,75 vs. 9,74%; contagem de células somáticas - 329,90 vs. 171,68 (x 1000/mL); e elecondutividade - 2,87 vs. 2,81mS/cm. A utilização de 500mg de rbST administrados quinzenalmente, entre 63 e 154 dias em lactação não alterou a produção de leite, a proporção dos constituintes e a CCS do leite de búfalas leiteiras.

Palavras-chave: búfalos, hormônio do crescimento, produção de leite, constituintes do leite

## ABSTRACT

*This study aimed to evaluate the effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on milk yield and the proportion of buffalo milk components during lactation. Twenty-two buffaloes randomly distributed in two experimental groups were used: Group rbST - application of 500mg rbST every 14 days, between 63 and 154 days in milk (DIM); Control Group - without treatment. Weekly, the milk yield of buffaloes was measured and a sample was collected for physicochemical analysis. The response variables were evaluated as repeated measures, using the Repeated procedure through the GLM procedure of SAS. Means and SEM of each variable after rbST and Control were: Milk yield - 6,54 vs. 6,68kg; Fat - 6,31 vs. 6,34%; Protein - 3,86 vs. 3,81%; Lactose - 4,96 vs. 5,02%; Milk solids - 16,05 vs. 16,03%; Defatted dry matter - 9,75 vs. 9,74%; Somatic Cells Count - 329,90 vs. 171,68 (x 1000/mL); and electrical conductivity- 2,87 vs. 2,81mS/cm. The use of 500mg of rbST administered every two weeks, between 63 and 154 days of lactation did not affect milk yield, proportion of milk constituents and SCC of dairy buffaloes.*

*Keywords: buffalo, growth hormone, milk yield, milk constituents*

---

Recebido em 1 de fevereiro de 2017

Aceito em 7 de junho de 2017

E-mail: [waldjaniomelo@zootecnista.com.br](mailto:waldjaniomelo@zootecnista.com.br)

## INTRODUÇÃO

O mercado para produtos lácteos de origem bubalina se encontra em crescimento da ordem de 20% ao ano no Brasil, fato que tem levado os produtores a buscar técnicas que aumentem a produção de leite e a proporção de sólidos totais para a industrialização (Gonsalves Neto *et al.*, 2009). Entre as técnicas disponíveis para melhorar a eficiência e a rentabilidade das propriedades leiteiras, está o uso da somatotropina recombinante bovina (rbST), uma biotécnica muito difundida para aumentar a produção de leite e a persistência da lactação de vacas leiteiras de alta produção (Rodrigues, 2008).

Também conhecida como hormônio do crescimento (STH), a somatotropina possui mecanismo de ação que envolve uma série de arranjos metabólicos no tecido animal, direcionando nutrientes para a glândula mamária, caracterizando-se como um excelente coordenador de nutrientes que aumenta a eficiência biológica para a síntese de leite (Bauman, 1992). Portanto, a administração de rbST contribui para a eficiência da atividade leiteira, promovendo aumentos da produção que variam de 3 a 40%, bem como na persistência da lactação, sem alterações nos teores de gordura, proteína, lactose (Santos *et al.*, 2001) e no número de células somáticas do leite (Tarazon-Herrera *et al.*, 2000; Dohoo *et al.*, 2003; Feckinghaus, 2009).

Alguns estudos têm sido realizados para verificar a influência desse hormônio sobre os constituintes do leite de búfalas (Santos *et al.*, 2001; Jorge *et al.*, 2002; Prasad e Singh, 2010). Entretanto, os efeitos da rbST sobre a produção e a composição do leite, assim como o comportamento da curva de lactação em búfalas ainda são muito variáveis e controversos, principalmente quando comparados com os efeitos bem conhecidos nas vacas.

Desse modo, fazem-se necessárias pesquisas que descrevam a ação da rbST em búfalas leiteiras, não somente sobre a produção de leite, mas também sobre a influência desse fármaco sobre os constituintes do leite e a flutuação deles ao longo da lactação. Assim objetivou-se, com este estudo, quantificar os efeitos da rbST sobre a produção de leite, os constituintes e o número de células somáticas no leite durante a lactação de búfalas. Há a hipótese de que a aplicação contínua de rbST

ao longo da lactação aumenta a produção de leite das búfalas, entretanto sem alterar as concentrações dos constituintes e a quantidade de células somáticas do leite.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRA, Protocolo 021/2016 (Ceua) – 23084.006670/2016-28 (Ufra), no qual foram atendidas todas as exigências da Lei Federal 11.794/08 (Lei Arouca), sendo respeitados os Princípios Éticos da Experimentação Animal do Cobre.

O experimento foi conduzido em uma fazenda localizada no município de Moju, na Mesorregião Nordeste do Estado do Pará. O clima da região onde se localiza a propriedade em estudo é caracterizado como Ami (quente úmido), de acordo com a classificação de Köppen, com temperatura média anual entre 25 e 27°C e precipitação anual entre 2.000 e 3.000mm/m<sup>2</sup>, com distribuição irregular. A umidade relativa do ar é elevada, com índice de umidade relativa anual média de 77,9% (Azevedo *et al.*, 2011).

Utilizaram-se 22 búfalas adultas de diferentes grupamentos genéticos, em sua maioria matrizes da raça Murrah (*Bubalus bubalis*) ou mestiças com predominância genética Murrah. Todas as búfalas eram múltiparas, lactantes com partos eutócicos, com média de 66±1,74 dias em lactação (DEL) e 6,97 ± 1,55 litros de leite por dia, em duas ordenhas diárias. Os animais foram mantidos em sistema de pastejo rotacionado em *Brachiaria* (*syn. Urochloa*) *humidicola* (Quicuiu da Amazônia), *Brachiaria* (*syn. Urochloa*) *brizantha* e *Panicum maximum* cv. Mombaça, recebendo água e sal mineral *ad libitum*. Adicionalmente às pastagens, as búfalas em lactação recebiam o quantitativo de 1kg de ração/dia, constituída por 30,61% de torta de murumuru (*Astrocaryum murumuru*), 61,29% de farelo de milho (*Zea mays*), 3,1% de núcleo mineral e 5% de ureia. Realizou-se a análise bromatológica da ração na Universidade Federal Rural da Amazônia, *campus* de Parauapebas - PA, adotando-se a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2009) (Tab. 1).

As búfalas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais, de modo que o primeiro grupo foi composto por 11 búfalas que

receberam a aplicação de 500mg de somatotropina bovina recombinante (Grupo rbST; 2mL de Boostin – MSD Saúde Animal) a cada 14 dias, por via subcutânea, na fossa ísquiorretal, alternando-se os lados esquerdo e direito a cada aplicação, totalizando sete aplicações, sendo primeira aos 63 dias em lactação e a última aos 154 dias em lactação. O segundo grupo foi constituído de 11 búfalas que não receberam aplicação de rbST (grupo controle).

Tabela 1. Composição bromatológica da ração fornecida para as búfalas leiteiras

Composição bromatológica	
30,61% de torta de murumuru + 61,29% de farelo de milho + 3,1% de núcleo mineral e 5% de ureia	
Matéria seca (%)	93,02
Matéria mineral (%)	8,41
Proteína bruta (%)	18,17
Extrato etéreo (%)	3,15
Fibra em detergente neutro (%)	23,9
Fibra em detergente ácido (%)	10,96

Eram ordenhadas manualmente, duas vezes ao dia, com intervalo médio de 12 horas entre as ordenhas. O controle da produção de leite foi realizado semanalmente, com esgota total prévia de 12 horas, nos intervalos 63-70; 77-84; 91-98; 105-112; 119-126; 133-140; e 147-154 dias em lactação.

A cada sete dias, foram coletadas amostras de leite em frascos estéreis (identificados) contendo microtabletes de conservantes à base de bronopol e acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo reciclável. Em seguida, eram encaminhadas à Clínica do Leite/Escola Superior Luís de Queiroz (ESALQ/USP), em Piracicaba-SP, credenciado na Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite, para a determinação dos teores de gordura (% m/m), proteína (% m/m), lactose (% m/m), extrato seco desengordurado (ESD) (% m/m) de sólidos totais (% m/m), avaliadas pelo método infravermelho-PO ANA 009 e contagem de células somáticas (CCS) (x 1000/mL) determinada pelo método de citometria de fluxo – PO ANA 008.

Também foram coletadas alíquotas de leite em frascos estéreis (identificados) sem conservantes, com capacidade para 75mL, e acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo reciclável. Em no máximo 24 horas, foram encaminhadas à Universidade Federal Rural da Amazônia - Ufra (Belém-PA) para determinação dos valores de eletrocondutividade (mS/cm) pelo método automatizado do aparelho ultrassônico (EKOMILK total®, Eon Trading LLC, Bulgária), conforme recomendações do fabricante.

A estatística descritiva dos dados, representada pelas médias aritméticas e o desvio-padrão (DP) de cada tratamento, foi obtida pelo procedimento *Means* do programa SAS, versão 9.2. As variáveis oriundas de análises laboratoriais foram avaliadas como medidas repetidas no tempo, referentes aos momentos de coleta dos dados (tempo) de acordo com cada tratamento (rbST e controle) e suas interações (tratamento\*tempo), utilizando-se o comando *Repeated* gerado pelo procedimento GLM do SAS. Realizaram-se os testes de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias de cada tempo. Os dados que não preencheram os pressupostos para a análise de variância (ANOVA) foram transformados em conformidade.

Quando a premissa de esfericidade não foi respeitada ( $P < 0,05$ ), as probabilidades de tempo (P tempo) e das interações dos tratamentos com o tempo (P trat\*tempo) foram corrigidas pelo teste de Greenhouse-Geisse Epsilon. A comparação entre as médias dos grupos dentro de cada tempo (trat/tempo) foi realizada por meio do teste de médias *Least Square Means* (LSMeans) do SAS. Foi utilizado o nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito de tratamento (controle e rBST) para nenhuma das variáveis estudadas (Tab. 2). Em contrapartida, foi observado efeito de tempo de lactação para produção de leite, proteína, lactose, ST, ESD e CCS, assim como efeito de interação (tratamento\*tempo) para produção de leite.

Tabela 2. Média e desvio-padrão (DP) da produção de leite (kg), constituintes do leite (% m/m) e contagem de células somáticas (x 1000/mL) no leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (controle) durante a lactação

	Controle		rbST		Tratamento	P value	
	Média	DP	Média	DP		Tempo	Trat*Tempo
Produção de leite (kg)	6.68	1.93	6.54	2.38	0,6219	<0,0001	0,0053
Gordura (% m/m)	6.34	1.24	6.31	1.39	0,9341	0,0067	0,6753
Proteína (% m/m)	3.81	0.56	3.86	0.31	0,7956	0,0004	0,8904
Lactose (% m/m)	5.02	0.18	4.96	0.27	0,3439	0,0350	0,1977
Sólidos totais (% m/m)	16.03	1.22	16.05	1.51	0,8535	0,0007	0,8719
ESD (% m/m)	9.74	0.31	9.75	0.39	0,9280	0,1543	0,7369
CCS (x 1000/mL)	171.68	277.51	329.90	581.55	0,6135	0,0001	0,6666
Eletrocondutividade (mS/cm)	2.81	0.34	2.87	0.37	0,7419	0,0001	0,5553

ESD - extrato seco desengordurado; CCS -contagem de células somáticas.

Percebe-se, nos resultados avaliados, que não houve um efeito positivo da rbST na produção de leite das búfalas tratadas ( $P>0,05$ ) (Fig.1; Painel A). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Jabbar *et al.* (2007), que verificaram o efeito do uso prolongado de rbST sobre a produtividade em búfalas da raça Nili-Ravi pluríparas em lactação, distribuídas em três grupos: animais tratados com 250mg de rbST com intervalo de 14 dias; 36mg de rbST em dias alternados; e búfalas controle que não receberam rbST. Os autores não constataram diferença significativa na produção média de leite entre os tratamentos. Em contrapartida, as pesquisas de Jorge *et al.* (2002), Mishra e Shukla (2004) e Hedál e Lasheen (2008) descreveram aumentos significativos na produção de leite de búfalas tratadas com rbST.

Mishra e Shukla (2004) observaram aumento de 25% na produção de leite ( $P<0,001$ ) de búfalas tratadas com três aplicações quinzenais de 250mg de rbST (Boostin-Chemicals, India Pvt.Ltd), a partir de 60 DEL, com aumento significativo na produção entre a quarta e a sétima semana, de nove semanas estudadas. Helal e Lasheen (2008) também verificaram o incremento na produção de leite de búfalas que receberam 500mg de rbST a cada 14 dias no período de duas semanas antes do parto até a 16ª semana de lactação. Por fim, Jorge *et al.* (2002) observaram incremento de 48,5% na produção de leite nas búfalas tratadas com 500mg de rbST (Boostin – Mallinckrodt Vet. Ltda.) a cada 14 dias, durante sete meses, sendo a primeira aplicação realizada 10 dias antes da data prevista do parto. Dessa forma, verifica-se que a maioria dos trabalhos indicaram aumento significativo da produção de leite com o uso de rbST em búfalas, diferentemente da presente pesquisa, ressaltando-

se que, nos referidos estudos, a administração de rbST teve início no período pré-parto. Possivelmente essa modalidade de tratamento tenha contribuído para a obtenção dos resultados.

A resposta à rbST varia consideravelmente dependendo da espécie, da modalidade de tratamento, do estágio de lactação e da nutrição animal (Baldi, 1999). Dessa forma, o não incremento significativo na produção de leite nas búfalas do presente experimento, pode estar associado a alguns fatores, como o estágio da lactação em que o rbST foi aplicado e, sobretudo, o manejo nutricional, em que o fornecimento de concentrado era feito sem considerar a produção de leite, e isso pode ter induzido a menor resposta ao hormônio, conforme também observaram Santos *et al.* (2001).

A concentração de gordura láctea também não foi influenciada pela aplicação da rbST (Fig.1; Painel B). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por outros pesquisados em búfalas (Srinivasa-Rao e Ranganadham, 2000; Helal e Lasheen, 2008; Feckinghaus, 2009; Prasad e Singh, 2010; Melo *et al.*, 2013). Segundo Ferreira *et al.* (2002), o não efeito da administração da rbST nos níveis de gordura láctea pode estar associado ao *status* energético do animal, pois animais em balanço energético positivo (BEP) não tiveram alteração na porcentagem de gordura do leite, diferentemente daqueles em balanço energético negativo, que tiveram aumento da gordura do leite, pois um dos precursores desse constituinte do leite (ácidos graxos de cadeia longa) é oriundo dos lipídios circulantes no sangue, derivado da dieta e do tecido adiposo mobilizado pelo rbST (Stelwagen *et al.*, 1992). Dessa forma, sugere-se



que as búfalas estudadas na presente pesquisa mantiveram-se em BEP, principalmente no que tange ao balanço de nutrientes entre a produção de leite vs. a ingestão de nutrientes.

A concentração média da proteína láctea ao longo do experimento foi de 3,86% no tratamento com rbST e de 3,81% no grupo controle (Fig. 1; Painel C), não havendo diferença entre os grupos ( $P>0,05$ ), corroborando os resultados obtidos por Srinivasa-Rao e Ranganadham (2000), Jorge *et al.* (2002), Helal e Lasheen (2008) e Melo *et al.* (2013), que não encontraram efeito da aplicação de rbST sobre a concentração de proteína no leite de búfalas. Entretanto, outros estudos verificaram que a proteína láctea em búfalas é influenciada pela administração da rbST (Prasad e Singh, 2010; Feckingham, 2009), diminuindo seus valores de acordo com as aplicações de rbST. O quadro de diminuição da proteína no leite pode ser consequência do balanço negativo de nitrogênio. Quando a rbST acentua o quadro de catabolismo, a diminuição da proteína láctea pode ocorrer se houver algum aumento na produção de leite, o que não foi verificado no presente ensaio.

Não foi observada qualquer influência do rbST sobre os teores de lactose no leite das búfalas ( $P>0,05$ ). Durante o período do experimento, os teores de lactose no grupo tratado com 500mg de rbST ao longo da lactação variaram entre 3,80% e 5,40%, enquanto no grupo controle oscilaram entre 4,20% e 5,40% (Fig.1; Painel D), estando na faixa de normalidade para os valores de lactose no leite bubalino descritos por Coelho *et al.* (2004) e Figueiredo *et al.* (2010). Outros estudos também não verificaram alteração nos teores de lactose em função da administração de rbST em búfalas leiteiras (Srinivasa-Rao e Ranganadham, 2000; Tarazon-Herrera *et al.*, 2000; Feckingham, 2009; Melo *et al.*, 2013).

Os resultados obtidos mostram não haver influência da aplicação de rbST nos teores de sólidos totais no leite das búfalas em estudo. Durante o período do experimento, os teores de sólidos totais no grupo tratado com 500mg de rbST oscilaram entre 12,30% e 20,00%, enquanto no grupo controle variaram entre 12,10% e 18,80% (Fig.1; Painel E), constatando-se valores similares aos descritos por Coelho *et al.* (2004); Figueiredo *et al.* (2010). Verificou-se que os

A

resultados de sólidos totais obtidos na presente pesquisa são análogos aos relatados por Feckingham (2009) e Melo *et al.* (2013), em bubalinos, e por Tarazon-Herrera *et al.* (2000), em bovinos. Uma vez que a gordura é o sólido constituinte majoritário do leite de búfalas, qualquer modificação em suas proporções poderá influenciar o teor de sólidos totais do leite (Cerón-Muñoz *et al.*, 2002). No entanto, como a administração de rbST não afetou a concentração de gordura no leite, o teor de sólidos totais também não foi influenciado.

Os resultados indicam não haver diferença entre os tratamentos ( $P>0,05$ ) nos teores de extrato seco desengordurado (ESD). Durante o período do experimento, os teores de ESD no grupo tratado com 500mg de rbST oscilaram entre 9,66% e 9,97%, e no grupo Controle variaram entre 9,64% e 9,84% (Fig.1; Painel F), confirmando os valores descritos para os níveis desse composto no leite bubalino por Coelho *et al.* (2004) e Figueiredo *et al.* (2010). A concentração de ESD encontrada neste estudo está abaixo do valor médio de 10,47%, descrito por Macedo *et al.* (2001), em búfalas da raça Murrah, no oeste do estado de São Paulo, e semelhante aos verificados por Araújo *et al.* (2011), em búfalas do Rio Grande do Norte, 9,93 e 10,02%, nos períodos chuvoso e seco, respectivamente. O ESD é composto pelas frações de proteína, lactose e cinzas, e depende dos teores individuais destes sólidos e do teor de gordura no leite (Lucena, 2003). Portanto, da mesma forma como os outros constituintes do leite, o ESD também não sofreu influência do tratamento com rbST.

Os resultados obtidos na presente pesquisa mostraram não haver diferença ( $P>0,05$ ) da CCS entre os tratamentos e o período experimental. Durante o período do experimento, os valores da contagem de células somáticas no grupo tratado com 500mg de rbST oscilaram entre 4 e 795 (x 1000/mL), enquanto no grupo controle oscilaram entre 3 e 1988 (x 1000/mL) (Fig.1; Painel G). Esses resultados estão em concordância com estudos realizados por Tarazon-Herrera *et al.* (2000), Dohoo *et al.* (2003), Feckingham (2009) e Melo *et al.* (2013), uma vez que os valores referentes a esse parâmetro não sofreram qualquer influência decorrente do tratamento instituído em búfalas.

B

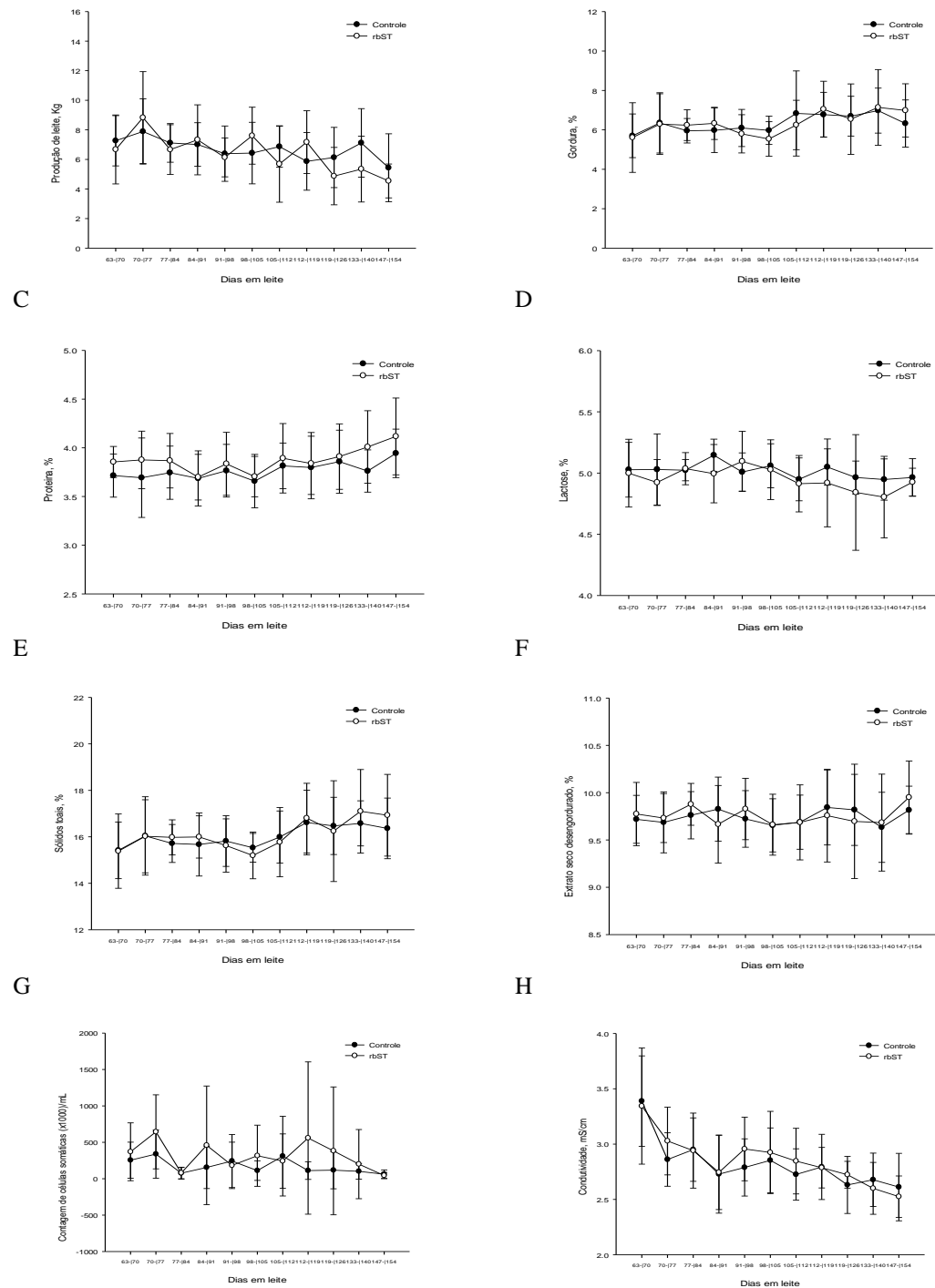


Figura 1. Constituintes e contagem de células somáticas (CCS) do leite de búfalas leiteiras ao longo da lactação, que foram tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST) ou não (controle). Painel A - produção de leite (kg); Painel B - gordura do leite (% m/m); Painel C - proteína do leite (% m/m); Painel D - lactose do leite (% m/m); Painel E - sólidos totais do leite (% m/m); Painel F- extrato seco desengordurado do leite (% m/m); Painel G - contagem de células somáticas do leite (x1000)/mL; Painel H - eletrocondutividade (mS/cm).

Não foi observada diferença nos valores médios de eletrocondutividade no leite bubalino entre os tratamentos e os períodos experimentais estudados. Os valores de eletrocondutividade no grupo tratado com 500mg de rbST oscilaram entre 2,20 e 4,30mS/cm, enquanto no grupo controle entre 2,20 e 4,0mS/cm (Fig.1; Painel H). Esses resultados são inferiores aos encontrados por Bastos e Birgel (2011) em búfalas criadas no estado de São Paulo,  $3,82 \pm 0,27$  e  $4,49 \pm 0,89$ mS/cm. De acordo com Santos e Fonseca (2007), a condutividade elétrica apresenta-se aumentada no leite oriundo de animais com mamite em razão da elevação na concentração de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ; dessa forma, é utilizada, em algumas vezes, como indicativo de doença. Destarte, a somatotropina bovina recombinante não induziu à mamite, haja vista que os valores de células somáticas e condutividade elétrica não foram alterados com sua aplicação.

### CONCLUSÃO

A utilização de 500mg de rbST administrados a cada 14 dias, entre 63 e 154 dias em lactação, não altera a produção de leite, tampouco os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, ESD, CCS e eletrocondutividade do leite de búfalas leiteiras criadas a pasto.

### REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, T.P.M.; RANGEL, A.H.N.; SOARES, A.D. *et al.* Influência das estações do ano sobre a composição do leite de búfalas mantido em tanque de resfriamento. *Agropecu. Cient. Semi-Árido*, v.07, p.01-05, 2011.
- AZEVEDO, J.C.; SANTOS, E.R.D.; MENDES NETO, L.O.R. *et al.* Produção de leite no dia do controle de búfalas leiteiras no estado do Pará. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA ZOOTEC, 13., 2011, Maceió. *Anais...* Maceió: [s.n], 2011. p.1-3. (Resumo).
- BALDI, A. Manipulating of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.17, p.131-137, 1999.
- BASTOS, P.A.S.; BIRGEL, E.H. Leite de búfalas Murrah, criadas em São Paulo (Brasil): influência da idade, fase de lactação, momento da ordenha e isolamento bacteriano na composição físico-química e celular. *Rev. Educ. Cont. Vet. Med. Zootec.*, v.9, p.6-13, 2011.
- BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.3432-3451, 1992.
- CERÓN-MUÑOZ, M.F.; TONHATI, M.; DUARTE, J. *et al.* Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.2885-2889, 2002.
- COELHO, K.O.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A. *et al.* Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. *Cienc. Anim. Bras.*, v.5, p.167-170, 2004.
- DOHOO, I.R.; DESCÔTEAUX, L.; LESLIE, K. *et al.* A meta-analysis review of the effects of recombinant and culling. *Can. J. Vet. Res.*, v.67, p.252-264, 2003.
- FECKINGHAUS, M.A. *Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rbST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação.* 2009. 89f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- FERREIRA, A.T.; SOUZA, J.C.; PEREIRA, M.N. *et al.* Influência da somatotropina bovina recombinante (rbst), aplicada um dia após o parto, sobre a produção de vacas da raça Holândes primíparas. *Ciênc. Agrotec.*, ed. esp., p.1568-1574, 2002.
- FIGUEIREDO, E.L.; LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; TORO, M.J.U. Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “*in natura*” produzido no estado do Pará. *Rev. Bras. Tecnol. Agroind.*, v.4, p.19-28, 2010.
- GONSALVES NETO, J.; FERNANDES, S.A.A.; SILVA, F.F.; PEDREIRA, M.S. Uso de somatotropina bovina em búfalas: efeitos sobre a produção e composição do leite. *Rev. Eletron. Nutritime*, v.6, p.1056-1071, 2009.
- HELAL, F.I.S.; LASHEEN, M.A. The productive performance of egyptian dairy buffaloes receiving biosynthetic bovine somatotropin (rbST) with or without monensin. *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, v.3, p.771-777, 2008.
- JABBAR, M.A.; AHMAD, I.; JAVID, S. *et al.* Effect of bovine somatotropic hormone on the productive performance of Nili-Ravi buffaloes. *Ital. J. Anim. Sci.*, v.6, p.1039-1042, 2007.

- JORGE, A.M.; GOMES, M.I.F.V.; HALT, R.C. Efeito da utilização da somatotropina recombinante bovina (bST) sobre a produção de leite em búfalas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, p.1230-1234, 2002.
- LUCENA, J.A. *Efeitos da somatotropina recombinante bovina (bst), da raça e da alimentação sobre a produção e a qualidade do leite de cabra na região nordeste do Brasil*. 2003. 118f. Tese (Doutorado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.
- MACEDO, M.P.; WECHSLER, F.S.; RAMOS, A.A. *et al.* Composição físico-química e produção de leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, p.1084-1088, 2001.
- MELO, W.O.; VIANA, R.B.; MONTEIRO, B.M. *et al.* Produção e composição do leite de búfalas tratadas com somatotropina recombinante bovina no pico de lactação. *Acta Vet. Bras.*, v.7, p.218-228, 2013.
- MISHRA, A.; SHUKLA. Effect of recombinant bovine somatotropin (Boostin-250) on blood metabolites and milk yield of lactating buffaloes. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, v.17, p.1232-1235, 2004.
- PIVATO, I. Aspiração folicular em bovinos-efeito do bST. *Workshop Reprod. Anim.*, v.2, p.61-76, 2005.
- PRASAD, J., SINGH, M. Milk production and hormonal changes in Murrah buffaloes administered recombinant bovine somatotropin (rbST). *Agric. Biol. J. N. Am.*, v.1, p.1325-1327, 2010.
- RODRIGUES, M. *Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a Produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa*. 2008. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP.
- SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. *Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite*. 2.ed. Barueri, SP: Manole, 2007. 314p.
- SANTOS, R.A.; TEIXEIRA, J.C.; ABREU, L.R. *et al.* Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rbST) na produção e composição do leite. *Ciênc. Agrotec.* v.25, p.1435-1445, 2001.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C.Q. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235p.
- SRINIVASA-RAO, K.; RANGANADHAM, M. Effect of bovine somatotropin on milk production and composition in lactating Murrah buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.*, v.53, p.46-50, 2000.
- STELWAGEN, K.; GRIEVE, D.G.; MCBRIDE, B.W.; REHMAN, J.D. Growth and subsequent lactation in primigravid Holsteins heifers after prepartum bovine somatotropin treatment. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.463-471, 1992.
- TARAZON-HERRERA, M.A.; HUBER, J.T.; SANTOS, J.E.P. *et al.* Effects of bovine somatotropin on milk yield and composition in Holstein cows in advanced lactation fed low or high energy diets. *J. Dairy Sci.*, v.83, p.430-434, 2000.

