



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EFEITOS DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DE LACTAÇÃO SOBRE A PRODUÇÃO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS

JULIANE SCHARLAU XAVIER

LAGES, 2020

JULIANE SCHARLAU XAVIER

EFEITOS DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DE LACTAÇÃO SOBRE A PRODUÇÃO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências Agroveterinárias, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^ª Dr^a Mere Erika Saito

Co-orientadora: Prof^ª Dr^a Letícia Andreza Yonezawa

**LAGES – SC
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Xavier, Juliane Scharlau
EFEITOS DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DE LACTAÇÃO
SOBRE A PRODUÇÃO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS /
Juliane Scharlau Xavier. -- 2020.
63 p.

Orientador: Mere Erika Saito
Coorientador: Leticia Andreza Yonezawa
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2020.

1. Bioquímica clínica. 2. Metabolismo oxidativo. 3. Produção de
leite. 4. Reprodução. 5. Bovino. I. Saito, Mere Erika. II. Yonezawa,
Leticia Andreza. III. Universidade do Estado de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação
em Ciência Animal. IV. Título.

JULIANE SCHARLAU XAVIER

EFEITOS DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DE LACTAÇÃO SOBRE A PRODUÇÃO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal, como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora

Orientadora: _____

Profª. Drª. Mere Erika Saito

Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages, SC

Membro _____

Drª. Deise Kelly Farias

Médica Veterinária Autônoma

Membro _____

Profº. Drº. André Thaler Neto

Universidade do Estado de Santa Catarina – Lages, SC

LAGES, 20/02/2020

Dedico esta pesquisa aos meus pais, e aos
parceirinhos Nevinho, Estrela e Lua.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a minha família, por fazerem parte de tudo isso mesmo que indiretamente, e me apoiarem nas minhas decisões.

Agradeço também ao Alceu Grebogi (o Alce) por me auxiliar com a idéia inicial do projeto.

Aos meus amigos, sem eles esse trabalho jamais teria saído do papel. Em especial ao Pedrão, que foi o braço direito do projeto do início ao fim, obrigada inclusive por ajudar nas horas de estudo na biblioteca da esquina. À Carla e ao Marciël, que auxiliaram imensamente com as análises. A todo pessoal das infinitas ‘coletas’ que (quase) sempre levantavam às 5h da manha (Erick, Luane, Giulia, Gabriel (Negão), Mike, Pilati, Lais, Louise, Alana, Soneca). A amizade de vocês tornou tudo muito melhor. À tia Féfi, que nossa amizade seja sempre maior que a teimosia da Marcolina.

Ao pessoal do Laboratório, Ana Cristina, Mariangela, Mayara, Carol, Denilson, entre outros, muito obrigada por toda a ajuda!

A todos os produtores rurais que gentilmente cederam seus animais (e aos próprios animais) para que esse projeto acontecesse.

A minha orientadora Prof^a Dra. Mere Erika Saito e à minha co-orientadora Prof^a Dra. Letícia Andreza Yonezawa, por terem aceitado me orientar, vocês foram o pilar para que esse projeto acontecesse.

À UDESC, pela oportunidade do mestrado. À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e à Bioclin, por ceder os kits para as análises laboratoriais.

Aos membros da banca, Prof^o Dr. André Thaler Neto e Dra. Deise Keli Farias, por aceitar participar desse momento.

E por último, quero agradecer ao André Macedo, por ter surgido na minha vida, me apoiar incondicionalmente e me fazer uma pessoa melhor ao seu lado.

“Os animais amam imediatamente e são gratos eternamente”.
(Autor desconhecido)

RESUMO

XAVIER, J. S. Efeitos Da Indução Artificial De Lactação Sobre a Produção e Saúde de Vacas Leiteiras. 2020. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Área de concentração: Sanidade e Patologia Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Lages, 2020.

Este estudo comparou a produção leiteira dos animais induzidos artificialmente com os de lactações naturais e seu perfil metabólico por meio de avaliações laboratoriais de hemograma, exames bioquímicos e de metabolismo oxidativo, além do desempenho reprodutivo durante 300 dias de lactação. Foram utilizadas 28 vacas da raça Holandesa divididas em dois grupos de 14 vacas cada, sendo um controle e outro experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância, com medidas repetidas no tempo em um DBC pelo PROC MIXED utilizando-se o Software Statistical Analysis System (SAS®) OnDemand for Academics (SAS Institute Inc., 2015), e foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Todos os animais do grupo experimental obtiveram sucesso na indução, com uma produção equivalente a 78% do controle. Quanto ao desempenho reprodutivo, em 11 dos 14 animais que foram considerados aptos à reprodução do grupo experimental obteve-se 54,54% de taxa de prenhez, e 85,71% para o controle (dentre os 14 animais). No estresse oxidativo, o MDA apresentou-se mais alto para ambos os grupos a partir do começo da lactação até o início do declínio da produção. A glicose mostrou significativamente ($p = 0,046$) mais alta no início da lactação para o grupo indução. Os corpos cetônicos demonstraram diferenças entre os momentos de coleta ($p < 0,0001$), e ao final da lactação, foram significativamente mais baixos para o grupo indução. O colesterol diminuiu levemente no momento do início da lactação para os dois grupos. Os triglicerídeos elevaram-se levemente no GE antes e no começo da lactação, enquanto para o GC, elevaram-se próximo ao pico de lactação. A albumina apresentou uma baixa concentração a partir dos 180 dias de lactação no GE. As concentrações de cálcio foram menores ($p < 0,0001$) para o grupo indução nos últimos momentos da lactação. O fósforo apresentou-se maior em M-21 para o GE, que diminuíram em M0, ficando significativamente menor que os valores do GC. O magnésio não apresentou diferença entre grupos. No hemograma, os valores de eritrócitos, VG e hemoglobina apresentaram uma ligeira redução no momento do início da lactação para o grupo experimental, porém sem ficar abaixo dos limites de referencia, podendo ser causado por uma adaptação do organismo às mudanças no metabolismo causadas pela aplicação de bST-r e início da lactação. No leucograma, os animais de ambos os grupos apresentaram quadro de neutrofilia no dia do início da lactação, porém significativamente maior para o grupo experimental, devido à aplicação de corticoides exógenos. O restante dos parâmetros não apresentou diferença entre tratamentos. Conclui-se que os parâmetros hematológicos e bioquímicos comportam-se de forma semelhante em vacas de indução artificial de lactação e vacas de lactações naturais, com variações passageiras decorrentes da aplicação de hormônios do protocolo, mas sem afetar a saúde dos animais. No metabolismo oxidativo, os animais de indução de lactação sofrem o mesmo nível de peroxidação lipídica de vacas de lactações naturais quando estão iniciando a lactação e até que haja um declínio na produção leiteira. As vacas de indução atingiram 78% da produção leiteira e 54,54% de taxa de prenhez após o protocolo, demonstrando que animais com problemas reprodutivos podem se beneficiar dos protocolos de indução para continuar sua vida produtiva.

Palavras Chave: Bioquímica clínica, metabolismo oxidativo, produção de leite, reprodução, bovino.

ABSTRACT

XAVIER, J. S. Effects of Artificial Induction on Health and Production of Dairy Cattle. 2020. 63f. Dissertation (Master in Animal Science - Area of concentration: Animal Health and Pathology) - State University of Santa Catarina. Graduate Program in Animal Science, Lages, 2020.

This study compared the milk production of artificially induced animals with those with natural pregnancy and its metabolic profile thru blood tests, oxidative stress and reproductive rates at 300 days of lactation. For the experiment, 28 Holstein cows were split in two equivalent groups of 14 cows each, being one the control group and other the experimental group. The resulting data was submitted to a variance analysis with repeated measurements over time in an RBD by PROC MIXED using the software SAS® OnDemand for Academics (SAS Institute Inc., 2015), and were considered significative when $p < 0,05$. All animals in the experimental group presented induction success, with a milk production equivalent to 78% from that of the control group. Regarding the reproduction performance, on 11 from 14 animals that were considered able to reproductive management, the induction group presented a rate of 54,54% pregnancy success, while the control group obtained 85,71% pregnancy success (among the 14 animals). Considering the oxidative stress, the MDA presented higher values for both groups from the beginning of the lactation period until the decrease of the production volume.

In the biochemical parameters, glucose was significantly ($p=0,046$) higher in the beginning of the lactation period for the induction group. Ketone bodies presented variations among the different sampling moments ($p < 0,0001$), and in the end of the lactation were significantly lower in the induction group. Cholesterol presented slightly lower levels in the beginning of the lactation period for both groups. Triglycerides presented results slightly higher for de EG before and in the beginning of the lactation period, while in the CG presented higher results near to the lactation period. A low concentration of albumin on the blood stream was observed starting around the 180 lactation in the EG. Calcium concentrations were also smaller ($p < 0.0001$) for the induction group in the end of the lactation period. Phosphorus presented higher in M-21 for the EG, that also presented lower results in M0, being significantly lower than the results from the CG. Magnesium did not present different results between the two groups. In the blood count, the values for erythrocytes, hemoglobin and hematocrit presented a slight reduction in the moment where the lactation started for the experimental group, although without being below the reference limits, which may indicate an adaptation of the organism to the metabolism changes caused by the application of bsT-r and the beginning of the lactation. In the leukogram results, the animals of both groups presented neutrophilia in the day where the lactation started, but significantly higher for the experimental group, due to the application of exogenous corticosteroids. The rest of the biochemical parameters did not present different results between the groups. It is possible to conclude that the hematological and biochemical parameters behave in a similar way in cows both in natural or artificially induced lactation, with temporary variations that arise from the application of the hormones of the induction protocol, but without affecting the health of the animals. In the oxidative metabolism, the lactation induction animals suffer from the same level of lipidic peroxidation that is found in cows with natural lactation from the beginning of the lactation to the decline in production. The induction cows reached 78% of milk production and 54,54% of pregnancy success, showing that cows with reproductive problems can benefit from the induction protocols to continue its reproductive lives.

Key Words: Clinical biochemistry, oxidative metabolism, milk production, reproduction, bovine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Protocolo do grupo experimental (GE) de indução artificial à lactação conforme proposto por Mingoti et al. (2016).....28

Figura 2. Médias e erro-padrão de produção de leite de vacas dos grupos controle e experimental em diferentes momentos de lactação. Asteriscos indicam diferença estatística entre os grupos nos momentos avaliados ($p < 0,05$)......33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias±erro-padrão para a produção de leite em kg/vaca/dia em vacas com lactação natural (GC) e com lactação induzida artificialmente (GE).	32
Tabela 2. Médias±erro-padrão para as concentrações de malondialdeído (MDA) ao longo dos momentos em vacas com lactação natural (GC) e com lactação induzida artificialmente (GE).	36
Tabela 3. Médias e erro-padrão para as concentrações de beta-hidroxibutirato (BHBA) e glicose ao longo dos momentos em vacas com lactação natural (GC) com lactação induzida artificialmente (GE). Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento. Asteriscos indicam diferença entre momentos.	38
Tabela 4. Média das concentrações de colesterol + erro-padrão; média das concentrações de triglicerídeos + desvio padrão ao longo dos momentos em vacas com lactação natural (GC) com lactação induzida artificialmente (GE); letras diferentes representam diferenças entre os grupos no momento avaliado.	40
Tabela 5. Médias e erro-padrão para as concentrações de albumina, globulinas e proteína sérica total para GC e GE ao longo de todos os momentos de colheita. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos no momento.	42
Tabela 6. Médias e erro-padrão dos valores de fosfatase alcalina (FA); médias e desvio-padrão dos valores de aspartato aminotransferase (AST) ao longo dos momentos para o GC e GE; Letras diferentes na linha indicam diferença entre grupos nos momentos.....	44
Tabela 7. Médias e desvio-padrão para os valores de creatina quinase (CK) e gama glutamiltransferase (GGT) ao longo dos momentos para os GC e GE; Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento, asteriscos indicam diferença entre momentos.	45
Tabela 8. Médias e desvio-padrão dos valores de ureia e creatinina nos diferentes momentos avaliados para o grupo controle e grupo experimental. Letras diferentes indicam diferença entre grupos no momento.....	46
Tabela 9. Médias e erro-padrão dos teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais; Escore de células somáticas + erro-padrão. Letras diferentes na linha indicam diferença entre grupos no momento.....	59

Tabela 10. Médias e erro-padrão dos valores de eritrócitos, hemoglobina, volume globular (VG), volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM). Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento.....60

Tabela 11. Médias e erro-padrão dos valores de proteína plasmática total (PPT), fibrinogênio e diferença no diâmetro dos eritrócitos (RDW). Médias e desvio-padrão dos valores de plaquetas obtidos nos diferentes momentos. Letras diferentes indicam diferença entre momentos; Asteriscos indicam diferença no momento avaliado.....61

Tabela 12. Médias e erro-padrão para os valores de Leucócitos totais, segmentados e linfócitos. Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento.62

Tabela 13. Médias e erro-padrão para os valores de cálcio; médias e desvio-padrão para os valores de fósforo e magnésio. Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento avaliado.63

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
BHBA	Beta-hidroxibutirato
bST -r	Somatotropina bovina recombinante
CHGM	Concentração de hemoglobina globular média
CK	Creatina quinase
DEL	Dias em lactação
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ERRO	Espécies reativas de oxigênio
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gama glutamil transferase
GH	Hormônio do crescimento/somatotropina
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
MDA	Malondialdeído
PPT	Proteína plasmática total
PST	Proteína sérica total
PVE	Período voluntário de espera
RDW	Diferença no diâmetro dos eritrócitos
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
VG	Volume globular
VGM	Volume globular médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISAO DE LITERATURA	16
2.1 GLÂNDULA MAMÁRIA	16
2.2 INDUÇÃO ARTIFICIAL DA LACTAÇÃO	18
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO	20
2.4 BIOQUÍMICA CLÍNICA	22
2.5 HEMATOLOGIA	25
3 OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 MOMENTOS AVALIADOS	28
4.2 ANÁLISE DO LEITE	29
4.2 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA	29
4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLHEITA DE SANGUE	30
4.4 METABOLISMO OXIDATIVO	30
4.5 BIOQUÍMICA CLÍNICA	30
4.6 HEMOGRAMA	31
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 ANÁLISE DO LEITE	32
5.2 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA	35
5.3 METABOLISMO OXIDATIVO	36
5.4 BIOQUÍMICA CLÍNICA	37
5.4.1 Glicose, colesterol, triglicérides e beta-hidroxibutirato (BHBA)	37
4.4.2 Proteína sérica total, albumina e globulina	41
4.4.3 Aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e creatinaquinase (CK)	43
3.5.4 Ureia e creatinina	45
3.5.5 Cálcio, fósforo e magnésio	47
5.6 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS	48
5.6.1 Hemograma	48
5.6.2 Leucograma	50
5 CONCLUSÃO	52

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
7 ANEXOS.....	59

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura de leite é uma importante atividade econômica para o Brasil. O país está entre os maiores produtores de leite do mundo, e o produto e seus derivados estão entre os principais agronegócios do país. Porém, a produção de leite ocorre principalmente por meio de pequenos produtores, que representam 90% das propriedades leiteiras, em sistemas de baixa produtividade e rentabilidade. Esse cenário vem se transformando, e a cadeia do leite está se tornando mais produtiva e competitiva (RANGEL, 2010). Essas mudanças no setor leiteiro têm consequências na sustentabilidade da atividade em pequenas propriedades, as quais devem ter um volume mínimo de produção para se tornarem rentáveis, e ao mesmo tempo cumprir as exigências de qualidade do produto.

O Brasil vem aumentando diariamente sua produção leiteira com um crescimento gradativo, e atualmente o país é o quarto maior produtor mundial de leite com 35,1 milhões de toneladas de leite (EMBRAPA, 2018).

A região Sul do Brasil se destaca nacionalmente por apresentar os maiores índices de crescimento na pecuária leiteira acompanhado de bons índices de produção. A produtividade média da região é de 4.067 kg de leite/vaca/ano, com destaque para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina que se apresentam em primeiro e segundo lugar com médias de 4.301 e 4.062 L/vaca/ano, respectivamente. Dentro desse cenário, Santa Catarina ocupa o quarto lugar em produção total do Brasil, destacando-se a região Oeste que representa 79% do total da produção leiteira (GIEHL ET AL., 2018). O diferencial dos catarinenses em relação aos demais estados da federação é que a produção, apesar de estar concentrada nas pequenas e médias propriedades rurais, possui uma alta produtividade por animal (EMBRAPA, 2018). Esses números mostram a produção de leite como uma atividade promissora na região, que vem crescendo ano a ano.

Atualmente nos rebanhos leiteiros um dos principais problemas econômicos está relacionado ao descarte precoce de fêmeas. Em estudos realizados nos Estados Unidos, esse número gira em torno de 31,39%, o que reduz a vida produtiva desses animais para em torno de apenas 25 meses. Nesse cenário, os problemas reprodutivos em vacas leiteiras são a principal causa do descarte voluntário precoce desses animais, com valores que giram em torno de 21,57% (RIBEIRO et al., 2003). No Brasil, o cenário se repete, em estudos realizados com bovinos confinados nos estados de Goiás e São Paulo, o percentual de animais descartados por problemas reprodutivos chega a 27% (SILVA et al., 2008). Esses animais acabam se tornando economicamente inviáveis de serem mantidos no rebanho, por

encerrarem muitas vezes uma lactação sem estarem gestantes (RIBEIRO et al., 2003). Dentre as principais causas estão a endometrite, os cistos ovarianos, e a repetição de cio sem uma causa definida (SILVA et al., 2008).

A grande ocorrência de descarte de fêmeas bovinas por problemas reprodutivos se torna um problema econômico para as propriedades leiteiras, muitas vezes inviabilizando a produção por encurtar a vida produtiva de um animal, de modo que a produção de novilhas de reposição é a segunda maior fonte de despesas em um sistema de produção de leite. Sendo assim, o descarte precoce de animais, devido a problemas reprodutivos, ocasiona um baixo, ou até nenhum retorno daquele animal para a propriedade leiteira, elevando fortemente os custos de produção (RIBEIRO et al., 2003).

O descarte involuntário de fêmeas leiteiras está muitas vezes relacionado a uma série de injúrias, e corresponde a 75% dos animais descartados no total (RIBEIRO, 2003). O período mais crítico para esses animais é o pós-parto imediato, pois é quando ocorre uma série de doenças relacionadas ao parto, entre elas a retenção de placenta, metrite séptica, hipocalcemia, cetose e deslocamento de abomaso à esquerda. Essas doenças estão relacionadas muitas vezes à distocia durante o parto, gestação gemelar, escore corporal elevado no momento do parto, entre outros (RADOSTITS et al., 2007).

Uma alternativa para aumentar a produtividade e a longevidade das vacas no rebanho mesmo com falhas reprodutivas são os protocolos de indução artificial de lactação. Uma grande vantagem no seu uso é o fato de que após as vacas iniciarem uma nova lactação, algumas retornam à atividade reprodutiva com capacidade de concepção. Essa lactação artificial permite que a fêmea com altos índices de produção leiteira, porém com falhas em conceber, possa gerar lucros para a fazenda, mesmo que a quantidade de leite obtida dessa forma seja menor que a normal, assim o animal tem a possibilidade ou chance de se tornar gestante (KLEIN, 2013).

2 REVISAO DE LITERATURA

2.1 GLÂNDULA MAMÁRIA

O desenvolvimento da glândula mamária inicia juntamente com a puberdade. O estrógeno e progesterona, juntamente com o hormônio do crescimento e os esteroides adrenais são responsáveis por desenvolver o sistema tubular. O desenvolvimento das células alveolares posteriormente é dado pela ação da progesterona juntamente com a prolactina. Apesar de ter início na puberdade, o mesmo só se torna evidente durante a primeira gestação. A glândula mamária, antes ocupada quase que exclusivamente por estroma, ao final da gestação, passa a ter um parênquima mamário composto por alvéolos bem desenvolvidos (KLEIN, 2013).

A lactogênese é o processo de início de uma lactação e está dividida em duas fases. A primeira ocorre no último trimestre da gestação, com a diferenciação estrutural e funcional do epitélio alveolar (SILVA, 2014). Em ruminantes, o lactogênio placentário é fortemente atuante no terço final da gestação, quando alcança seu pico (em torno de 1 µg/mL). Acredita-se que o mesmo possa ser responsável por grande parte do crescimento mamário durante esse período, pois o hormônio atua como hormônio lactogênico e mimetizando o hormônio do crescimento (GH), visto que possui propriedades semelhantes à prolactina e ao GH. Adicionalmente, o lactogênio placentário bovino (bPL) também é responsável por promover o desenvolvimento dos alvéolos mamários (KLEIN, 2013). A lactação pode se iniciar sem a presença do mesmo, o que é evidente em casos de indução artificial de lactação em ruminantes, porém, quando se administra o bPL juntamente com os demais hormônios, a tendência é que haja um maior desenvolvimento do tecido mamário, melhorando a produção de leite posterior (BYATT et al., 1997).

A segunda fase consiste na completa diferenciação estrutural e bioquímica das células alveolares, que adquirem a capacidade de síntese de lactose e caseína, elevando a atividade metabólica e produzindo grande quantidade de leite. Essa fase inicia-se no parto imediato (SILVA, 2014).

O início da secreção de leite é desencadeado por dois estímulos hormonais. Um deles compreende o estímulo induzido pela prolactina, que atinge seus níveis mais altos próximo ao momento do parto, e o segundo está relacionado à remoção da inibição da secreção do tecido mamário causada pela progesterona, que tem seus níveis drasticamente reduzidos próximo ao momento do parto (LUZ et al., 2019). Também nessa fase encontram-se elevadas as concentrações de estrógeno, glicocorticoides, GH e prostaglandina (KLEIN, 2013).

A prolactina e os glicocorticoides auxiliam no desenvolvimento do retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi das células alveolares no periparto, sendo que nessa fase o tecido possui a maior capacidade de síntese de lactose e caseína. Essa capacidade de síntese tende a se manter mesmo após o início do declínio na produção de leite (WILDE et al., 1986; KLEIN, 2013).

Após iniciada a lactação, a sua manutenção, conhecida como galactopoiese, vai depender de que o número e a capacidade de síntese das células alveolares se mantenham estáveis. Os principais hormônios relacionados à continuidade e manutenção da lactação são a ocitocina, somatotropina juntamente com o fator de crescimento IGF-1, prolactina, triiodotironina (T3) e tiroxina (T4).

A ocitocina atua no reflexo de ejeção do leite, que precisa ser frequente para que o animal não iniba a sua produção. Porém, mesmo com o manejo de ordenha rotineiro, com o passar do tempo tende a diminuir sua produção (KLEIN, 2013; SILVA, 2014). Em geral, preconiza-se um período de 305 dias de lactação na espécie bovina (KLEIN, 2013).

A somatotropina ou hormônio do crescimento tem um papel importante na manutenção da lactação em vacas, pois eleva a disponibilidade de nutrientes que serão direcionados para a glândula mamária (FREITAS et al., 2010).

Esse hormônio atinge seu pico no momento do parto ou pouco depois. Enquanto isso, a alta demanda de glicose, devido ao rápido crescimento fetal ao final da gestação e para a produção de leite depois do parto, acaba fazendo com que os níveis de insulina diminuam. A insulina atinge suas concentrações mínimas nas semanas seguintes após o parto, o que aliado a níveis elevados de GH, estimulam a lipólise no organismo (VERNON, 2005).

Quando se submete uma vaca em lactação a aplicação exógena de somatotropina bovina (bST-r), ocorrem diversas mudanças fisiológicas no organismo. Sabe-se da elevação do aporte sanguíneo para o tecido mamário, devido ao aumento no débito cardíaco, em conjunto com a redução na formação de tecido adiposo. Também há o aumento da utilização de glicose e aminoácidos para a síntese do leite (NRC, 2001).

Outro mecanismo de ação do hormônio seria o aumento da perfusão vascular do tecido glandular mamário através do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), aumentando a atividade de enzimas como a lactose sintetase, que atua abaixo de sua capacidade máxima, além de diminuir a taxa de morte das células secretoras e elevar sua proliferação (SHIBRU, 2016).

Após o parto, uma vaca leiteira tende a aumentar sua produção de leite durante as primeiras semanas, chegando ao pico entre a quarta e a sexta semana, depois começa a

declinar gradativamente (LAGO et al., 2004; KLEIN, 2013). Durante esse período, pode-se observar diversas alterações no metabolismo da vaca, que passa a demandar altas quantidades de energia e aminoácidos para suprir as necessidades da glândula mamária, e aliando a isso percebe-se uma baixa ingestão de matéria seca. Devido a isso, tende-se a criar um balanço energético negativo, no qual o animal passa a consumir tecido muscular para suprir a demanda por aminoácidos, que pode ser até três vezes o normal, e também começa a mobilizar grande parte da glicose circulante no organismo e direcionar para a glândula mamária (SORDILLO e AITKEN, 2009).

2.2 INDUÇÃO ARTIFICIAL DA LACTAÇÃO

A indução artificial de lactação permite a uma vaca leiteira a iniciar uma nova lactação por meio da administração de hormônios, tais como estrógeno, progesterona e hormônio do crescimento. A aplicação dos hormônios visa mimetizar a fase final de gestação, induzindo a vaca a desenvolver a glândula mamária e iniciar a produção de leite (SMITH e SCHANBACHER, 1973).

Diversos protocolos hormonais vêm sendo utilizados para indução artificial da lactação. São utilizados protocolos de 7 a 10 dias (SMITH e SCHANBACHER, 1973; MAGLIARO et al., 2004), com 70% dos animais iniciando a lactação, até protocolos de 21 dias (FREITAS et al., 2010), com taxas de sucesso em torno de 85%, considerando-se uma produção leiteira superior a 9 kg/dia. Outros autores relatam taxas de até 100% de sucesso no protocolo de indução, com protocolos de 21 dias (MELLADO et al., 2006).

A resposta dos animais com os diferentes protocolos de indução se mostra ainda bastante variável (FREITAS et al., 2010), o que pode ser explicado por alguns fatores tais como a taxa de absorção dos hormônios aplicados ou o status funcional das glândulas endócrinas do animal em questão (pituitária, adrenal, entre outras). Outra explicação possível é que durante o final da gestação, os níveis de progesterona diminuem enquanto os de estrógeno ainda se mantêm altos, e em vacas de indução não há controle sobre a produção endógena de progesterona, que pode se manter elevada, prejudicando assim a resposta ao protocolo de indução artificial (SMITH e SCHANBACHER, 1973).

Ainda, variações no uso de hormônios nos protocolos acarretam em diferentes taxas de respostas dos animais à indução. O uso do benzoato de estradiol ao invés do cipionato nos protocolos tem demonstrado melhores resultados, tanto no índice de animais induzidos com sucesso (considerando-se sucesso como produção superior a 9 kg/dia), quanto na produção de

leite, que está mais próxima da produção de uma lactação natural (FREITAS et al., 2010). Porém, a dose preconizada de benzoato de estradiol para uso nos protocolos é maior que a de cipionato de estradiol, e acredita-se que a manutenção mais elevada da concentração de estradiol provoca maior sinergismo com a progesterona, promovendo um melhor desenvolvimento lóbulo-alveolar na glândula mamária.

A somatotropina é um hormônio que, se administrado por via exógena, tem capacidade de aumentar a produção de leite das vacas, devido à modificação no metabolismo, o que traz uma maior mobilização de nutrientes para a síntese do leite. Além disso, o animal tende a ingerir uma quantidade maior de alimentos. A utilização desse hormônio poderá resultar em um incremento bruto na lactação de até 19% da produção (KLEIN, 2013). Outros autores já relataram que em vacas de indução de lactação, a produção de leite pode aumentar em 17,8% nos primeiros 70 dias de lactação, sendo essa uma ferramenta útil de ser combinada aos protocolos de indução de lactação (MAGLIARO et al., 2004). A aplicação de GH piora o equilíbrio energético das vacas momentaneamente, porém, o mesmo se compensa pelo aumento no consumo voluntário de alimentos (KLEIN, 2013).

Em estudos com indução de lactação em novilhas da raça Holandesa, os animais que receberam o bST-r produziram 36% a mais de leite que os animais que não receberam. Também se observou uma interação entre a aplicação de bST-r e o tempo de lactação, indicando que a diferença na produção dos animais tratados ou não aumenta com o aumento no DEL (MACRINA et al., 2011).

O uso de protocolos para indução da lactação acarreta um pico de lactação mais tardio quando comparado aos animais que apresentam lactação fisiológica após o parto (OLIVEIRA e FERREIRA, 2016). Sabe-se também que novilhas tendem a alcançar o pico mais precocemente (em torno de $8,2 \pm 1,0$ semanas de lactação) do que vacas (por volta de $10,7 \pm 1,3$ semanas) quando submetidas aos protocolos (RAMGATTIE et al., 2014).

Apesar dos animais de indução demorarem mais tempo para alcançar o pico de lactação, a lactação apresenta média de dias em lactação (DEL) de 289 ± 74 segundo estudo conduzido por Magliaro et al. (2004). Além disso, as vacas conseguem atingir picos de produção de leite de $32,2 \pm 11,5$ kg/dia aproximadamente no dia 125 ± 47 de lactação. Esse atraso de 30 a 50 dias para se alcançar a produção máxima, pode ser explicado pelo desenvolvimento da glândula mamária, na qual uma grande porção de alvéolos imaturos demora mais tempo para se desenvolver (NARENDRAN et al., 1974).

Em vacas submetidas a protocolo de indução de 21 dias, nas quais foram feitas biópsias da glândula mamária em diferentes dias, observa-se um aumento gradativo na

expansão do epitélio e ductos mamários e redução no estroma. Aos 49 dias de lactação, pode-se observar nos cortes histológicos que o epitélio e ductos mamários ocupam mais de 50% da área total da glândula mamária, e o desenvolvimento do epitélio e lúmen na glândula mamária atinge seu máximo aos 130 dias de lactação, enquanto o estroma é observado em quantidades mínimas (FLEMING et al., 1986), essa demora no desenvolvimento mamário explica provavelmente o atraso desses animais para atingirem o pico de lactação.

Além disso, a indução artificial de lactação pode auxiliar na questão reprodutiva dos animais. Em um estudo utilizando protocolo de indução em quatro novilhas, após a aplicação do protocolo, todas tornaram a apresentar ciclo estral normal, sendo inseminadas e posteriormente confirmadas gestantes (OLIVEIRA e FERREIRA, 2016). Em outro experimento utilizando 29 vacas induzidas à lactação sem diagnóstico de restrições à reprodução, após a indução todos os animais desenvolveram cistos nos ovários entre os dias 30 e 50 de lactação, tendo sido tratadas com aplicações de GnRH e prostaglandina. Após o tratamento desses distúrbios os animais foram inseminados, obtendo-se 41,1% de taxa de prenhez (FREITAS et al., 2010).

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

Os radicais livres são definidos como moléculas que possuem pelo menos um elétron desapareado nas órbitas moleculares. Esse elétron provoca certa instabilidade, permitindo reações com moléculas que estejam em volta, como DNA, proteínas e lipídios (SORDILLO e RAPHAEL, 2013).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são a classe de radicais livres mais abundantes nos tecidos animais, e derivam do oxigênio molecular. São formadas como um subproduto do metabolismo celular, e possuem um papel importante na resposta imune, visto que sua formação acontece quando há a destruição de patógenos fagocitados, além de participarem da mediação da resposta inflamatória, pois estão envolvidos na expressão de sinalizadores da resposta inflamatória (ABUELO et al., 2015).

O estresse oxidativo é resultado do processo de fosforilação oxidativa mitocondrial, que gera ATP e ao mesmo tempo reduz o oxigênio molecular em água. Esse acaba ocorrendo em certas condições, quando radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio, que são ERO, são formados em excesso, tornando-se prejudiciais ao organismo (RANG et al., 2004).

Um dos subprodutos conhecidos da peroxidação dos lipídios em materiais biológicos, especialmente em membrana celular, é o malondialdeído (MDA). O MDA possui baixo peso

molecular, e é considerado um indicador bastante confiável de estresse oxidativo (DRAPER e HADLEY, 1990; COLAKOGLU et al., 2017). Como subproduto resultante da peroxidação lipídica, ele se torna um meio fácil de avaliar a peroxidação lipídica em diversos tecidos animais, pois os lipídios, principalmente os poli-insaturados, são alguns dos substratos mais propensos a desenvolver danos provenientes das ERO e sofrer oxidação (CELI, 2011). Além disso o mesmo também pode ser mensurado na sua forma eritrocitária (JANERO, 1990).

As ERO podem provocar danos ao DNA do animal, e isso resulta muitas vezes em transcrições alteradas, levando a alterações genômicas permanentes, o que está associado ao câncer e envelhecimento em humanos. O impacto específico disso em bovinos de leite ainda não é totalmente conhecido, porém, elevação na peroxidação lipídica está muitas vezes associada ao período de transição (SORDILLO; AITKEN, 2009).

Quando se inicia a lactação, ocorrem intensas adaptações metabólicas no organismo dos ruminantes (CASTILLO et al., 2006). Nesse momento, os animais tendem a entrar em um quadro de balanço energético negativo, devido à grande mobilização de energia, e isso pode elevar as concentrações de ERO pela maior peroxidação lipídica (PEDERNERA et al., 2010). Sugere-se que os níveis mais altos de malondialdeído sérico tendem a aparecer nos momentos em que as vacas estão mais propensas a desenvolver distúrbios metabólicos (CASTILLO et al., 2006).

No período pós-parto, ocorrem também grandes variações na ingestão de matéria seca pelos indivíduos. Acredita-se que os ruminantes tendem a otimizar o consumo de alimentos, baseando-se na composição da dieta fornecida e mudanças na sua homeostase, pois a maior taxa de ingestão leva ao maior uso de oxigênio na formação de ATP, e isso tem como consequência a maior geração de ERO. Essa teoria demonstra que os animais tendem a otimizar ao invés de maximizar o consumo de alimentos, sendo essa uma estratégia para minimizar a produção de ERO, que seriam prejudiciais a longo prazo para o funcionamento celular, facilitando sua recuperação e sobrevivência (KETELAARS e TOLKAMP, 1996).

Em animais doentes, os granulócitos podem ser responsáveis pela produção de até dez vezes mais metabólitos reativos de oxigênio. Em vacas com mastite aguda ou subclínica, observa-se aumento nos níveis de hidroperóxido de lipídios nos eritrócitos, além de redução nos níveis de ascorbato no plasma, que são indicadores do aumento no metabolismo oxidativo do animal. Estudos ainda propõem a administração de substâncias antioxidantes no auxílio do tratamento de injúrias, pois auxiliaria as células de defesa no combate aos agentes agressores (LYKKESFELDT e SVENDSEN, 2007). Um importante antioxidante é a albumina, a qual pode ter sua produção prejudicada devido a disfunções hepáticas, o excesso de mobilização de

gorduras pode prejudicar o fígado devido ao acúmulo de lipídios, e vacas com hepatomegalia tem capacidade reduzida de produzir antioxidantes (PEDERNERA et al., 2010).

2.4 BIOQUÍMICA CLÍNICA

Os alimentos, desde a sua ingestão até a sua excreção, são submetidos a diversas reações bioquímicas, e fornecem energia para os animais por meio de seus três maiores constituintes, carboidratos, lipídios e proteínas. As reações ocorrem em diversos sítios dentro do organismo animal, sendo dependentes em grande parte de enzimas, e liberando diferentes produtos ao final. O metabolismo animal representa esse conjunto de reações que ocorrem nos diferentes tecidos e órgãos (KANEKO et al., 2008). A mensuração de diversos componentes da corrente sanguínea é capaz de fornecer um quadro representativo do funcionamento do organismo animal, sendo importante no diagnóstico de possíveis disfunções e desequilíbrios que possam ocorrer. As mensurações bioquímicas podem ser utilizadas no período de transição de bovinos de leite para se monitorar os parâmetros de saúde, detectando precocemente o desenvolvimento de doenças, para que a eficiência da terapia aplicada em cada caso seja maximizada (QUIROZ ROCHA et al., 2009).

Durante o período de transição, quando pode ocorrer o balanço energético negativo devido à alta demanda energética e baixo consumo calórico, o organismo é obrigado a mobilizar as reservas de gordura existentes, o que acarreta na liberação de ácidos graxos não esterificados e corpos cetônicos na circulação sanguínea, para servirem como fonte de energia para os demais tecidos (SORDILLO e AITKEN, 2009). Isso pode ocorrer, visto que o útero prenhe no final da gestação e a glândula mamária, no início da lactação, têm preferência na utilização de nutrientes nos ruminantes (BERCHIELLI, 2006). Assim, mais de 80% da glicose circulante é direcionada para a glândula mamária nesse período para a produção de leite, enquanto a maior parte das gorduras mobilizadas dos tecidos é utilizada para a composição da gordura do leite (WATHES et al., 2013).

A glândula mamária em bovinos utiliza em média 8 g de glicose, 3 g de aminoácidos e 6 g de ácidos graxos para cada 100 mL de leite produzidos. A lactose presente no leite é o principal componente osmótico do mesmo, o que significa que sua produção vai determinar o volume de fluido a ser extraído (carreado) para a glândula, e a mesma deriva da glicose plasmática, mesmo que em ruminantes as concentrações de glicose no sangue sejam baixas. Sabe-se que dentro de certa faixa de concentração de glicose plasmática, em torno de 20 a 80 mg/dL, a produção de lactose se mantém constante, o que significa que mesmo em condições

em que há hipoglicemia, o animal continua produzindo o mesmo montante de lactose (KANEKO et al., 2008). Se a glândula mamária não receber o aporte adequado de glicose, a produção leiteira tende a declinar. Além disso, os tecidos do animal lactante também podem ser mobilizados para a produção leiteira com uma eficiência energética em torno de 80-85% (FALCONER, 1980).

O uso da glicose no organismo de ruminantes apresenta diferenças significativas quando comparado a outras espécies. Kaneko et al. (2008) cita que em torno de 60% da demanda de glicose de uma vaca em lactação ocorre pela produção de leite. Já o acetato possui um papel fundamental no fornecimento de energia em ruminantes. Somente 10% do CO₂ expirado deriva da oxidação da glicose, número muito menor que em monogástricos como cães, ratos e humanos, que varia de 25 a 60%.

Os corpos cetônicos se formam a partir dos ácidos graxos de cadeia longa, que são liberados durante a lipólise no tecido adiposo. Quando os níveis de glucagon estão altos e os de insulina baixos, aumenta a atividade da cAMP nos adipócitos, levando a ativação da lipase sensível a hormônio, também conhecida como lipase do triacilglicerol, que quebra o triacilglicerol em ácidos graxos de cadeia longa e glicerol. Quando esses ácidos graxos de cadeia longa chegam ao fígado, ele os remove da corrente sanguínea, e os converte em citrato ou em cetonas. Quando ocorre uma formação excessiva de citrato, ou falta substrato suficiente para sua formação, esse ciclo é inibido e os ácidos graxos são direcionados para a formação de cetonas apenas, que acabam acumulando-se (GOFF, 1999).

O aumento na formação de corpos cetônicos e o excesso de mobilização de ácidos graxos pode causar esteatose hepática e a ocorrência de doenças metabólicas, como a cetose. Isso ocorre devido ao aumento na concentração dos hormônios que estimulam a lipólise, como o glucagon e o hormônio do crescimento, enquanto a insulina é inibida (SORDILLO e AITKEN, 2009). A cetose tende a ocorrer justamente durante o pico de lactação do animal (KANEKO et al., 2008). Sabe-se também que vacas que consomem em excesso as reservas corporais de gordura nesse período pós-parto tendem a desenvolver mais doenças infecciosas (SORDILLO et al., 2009). Um animal em quadro de cetose pode apresentar diversos sinais clínicos, variando desde a diminuição na produção de leite, falta de apetite, até sinais neurológicos (RADOSTITS et al., 2007).

As mudanças que ocorrem no período pós-parto também podem incluir alteração nas lipoproteínas circulantes. Os hepatócitos passam a sintetizar mais lipoproteínas de alta densidade e diminuem a produção das de baixa densidade. Essas lipoproteínas de baixa densidade contêm a maior parte do colesterol ligado a elas, e por isso pode ocorrer a redução

dos níveis de colesterol nesse período (QUIROZ ROCHA et al., 2009). A mensuração dos triglicérides séricos pode ser usada para se avaliar as reservas energéticas do organismo (NOZAD et al., 2014), assim como a mensuração de colesterol sérico, que auxilia no diagnóstico do balanço energético do organismo. As adaptações do organismo para a produção de leite pela glândula mamária podem resultar em hipocolesterolemia, e esse achado pode estar relacionado também a presença de cetose nos animais (DJOKOVIC et al., 2012).

O aumento dos ácidos graxos não esterificados, que ocorre no pós-parto, visa fornecer um substrato energético alternativo ao uso da glicose. Isso acaba levando a um acúmulo de acetil-CoA, que é parcialmente oxidado em corpos cetônicos, como o beta-hidroxibutirato (BHBA). A sua concentração sanguínea fornece uma indicação da oxidação de ácidos graxos. Já a concentração de ácidos graxos não esterificados reflete a extensão da mobilização de tecido adiposo (ENRIGHT et al., 1989). Esses dois parâmetros refletem a extensão das mudanças metabólicas do animal. Nesse período, vários fatores contribuem para que haja dano mitocondrial. Os ácidos graxos nesse momento se tornam uma grande fonte de energia devido à limitada disponibilidade de glicose circulante, e os mecanismos antioxidantes podem não suprir a necessidade do animal, o que acaba levando a uma maior formação de ERO. Sabe-se também que animais com escore corporal elevado, ou que perdem peso rapidamente são mais sensíveis ao estresse oxidativo (WATHES et al., 2013).

A concentração de ácidos graxos inicia seu aumento aproximadamente duas semanas antes do parto, e atinge o pico nos dez dias seguintes. Aproximadamente duas semanas pós-parto, ela começa a diminuir, enquanto a concentração de BHBA tende a aumentar até aproximadamente a sexta semana de lactação (WATHES et al., 2013).

O úbere utiliza grande quantidade de proteínas para a produção de leite, e isso pode estar relacionado a reduções nas concentrações séricas de ureia circulante, pois dietas muitas vezes com reduções na ingestão de matéria seca podem causar um aumento na absorção de amônia, o que provoca uma maior reciclagem da ureia no rúmen (QUIROZ ROCHA et al., 2009).

No momento do parto, uma das alterações mais evidentes para vacas de leite é a diminuição na concentração de cálcio circulante. A hipocalcemia resulta da grande utilização de cálcio em um curto espaço de tempo (GOFF, 1999). A hipocalcemia ocorre em geral no período pós-parto imediato ou até mesmo durante o parto. Nesse estágio, a concentração de cálcio sérico pode chegar a menos de 1,0 mg/dL, cursando com um estado de anorexia, taquicardia com diminuição da intensidade das bulhas cardíacas, podendo ocorrer arritmias, e estase ruminal. A diminuição na ingestão de alimentos ou estase do trato gastrointestinal pode

resultar em diminuição do fósforo inorgânico sérico (RADOSTITS et al., 2007). Adicionalmente, a lactação e o final da gestação podem resultar em grandes perdas de magnésio do fluido extracelular (REINHARDT et al., 1988).

O declínio na concentração do cálcio no plasma faz com que haja diminuição da tonicidade muscular de modo geral, o que resulta em redução na motilidade do abomaso, e pode levar a atonia abomasal aliada a uma distensão do órgão. Em concentrações de 7,5mg/dL de cálcio (abaixo desse valor considera-se hipocalcemia subclínica), estima-se uma redução de 30% na motilidade e 25% na força das contrações abomasais. Estima-se que entre 10 e 50% das vacas chegam a permanecer em hipocalcemia subclínica por um período superior a 10 dias pós-parto. Em geral, os sinais clínicos só são percebidos em concentrações abaixo de 4 mg/dL. Os animais que apresentam hipocalcemia tendem a ter um declínio maior na ingestão de alimentos no pós-parto, o que exacerba o balanço energético negativo. A hipocalcemia também diminui a secreção de insulina, diminuindo o uso da glicose circulante pelos tecidos, levando a um aumento ainda maior na mobilização de lipídios, predispondo a cetose (GOFF, 1999).

2.5 HEMATOLOGIA

Diversas alterações fisiológicas acontecem em vacas de leite no final da gestação e início da lactação. Essas acabam se refletindo nos aspectos hematológicos dos animais (EPPARD et al., 1997).

Após o parto, diversos parâmetros hematológicos acabam sendo alterados. O número de eritrócitos das vacas tende a aumentar à medida que a gestação avança (JAIN, 1993). Os valores de hematócrito em vacas gestantes tendem a se apresentar mais altos que no período pós-parto, assim como a concentração de hemoglobina é mais elevada antes do parto do que em animais até 30 dias pós-parto (NAZIFI et al., 2008). A contagem de eritrócitos, que diminui no momento do parto, tende a permanecer mais baixa até aproximadamente os 60 dias de lactação.

Outros fatores que podem afetar os parâmetros hematológicos são a aplicação de hormônios como a somatotropina recombinante bovina (bST-r). Estudos demonstram que pode haver a diminuição dos valores relacionados aos eritrócitos no hemograma de animais tratados por períodos prolongados com o bST-r, porém, tendem a permanecer dentro dos limites aceitáveis, não causando sinais clínicos (EPPARD et al., 1997).

Quando vai se aproximando do momento do parto, elevam-se os níveis de glicocorticoides liberados pela glândula adrenal do feto, e vão circular na corrente sanguínea da vaca, podendo ocasionar algumas alterações hematológicas. O animal nesse momento tende a apresentar um hemograma de estresse, tipicamente caracterizado por uma neutrofilia, linfopenia, eosinopenia e monocitose (WEISS e WARDROP, 2010).

No periparto em bovinos leiteiros ocorre uma alteração na função dos neutrófilos, conhecida por disfunção neutrofílica, e parece estar relacionada aos baixos níveis de selênio e altos níveis de glicocorticoides que podem ocorrer nesse momento. Os mesmos problemas relacionados à função dos neutrófilos podem se apresentar em bovinos tratados com aplicações de glicocorticoides exógenos. A diminuição na capacidade de ação dos neutrófilos e linfócitos em vacas periparturientes contribui também para um estado de supressão imunológica, que predispõe os animais a adquirirem doenças infecciosas nesse momento. Essa disfunção tende a alcançar seu estado mais grave na primeira semana após o parto (WEISS e WARDROP, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho visou comparar a produção leiteira e o estado geral de saúde de vacas submetidas a um protocolo de indução artificial à lactação com vacas apresentando lactação natural.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação da produção leiteira, a composição do leite e o pico de lactação de vacas com lactação natural com vacas submetidas à indução da lactação;
- Acompanhamento dos valores hematológicos e de bioquímica sérica dos animais, para verificação dos possíveis efeitos do protocolo de indução artificial à lactação e do uso constante da somatotropina bovina recombinante em vacas leiteiras.
- Verificação do metabolismo oxidativo de vacas submetidas à indução artificial da lactação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido à análise e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina – CEUA – CAV/UDESC, sob o protocolo de nº 6199270518.

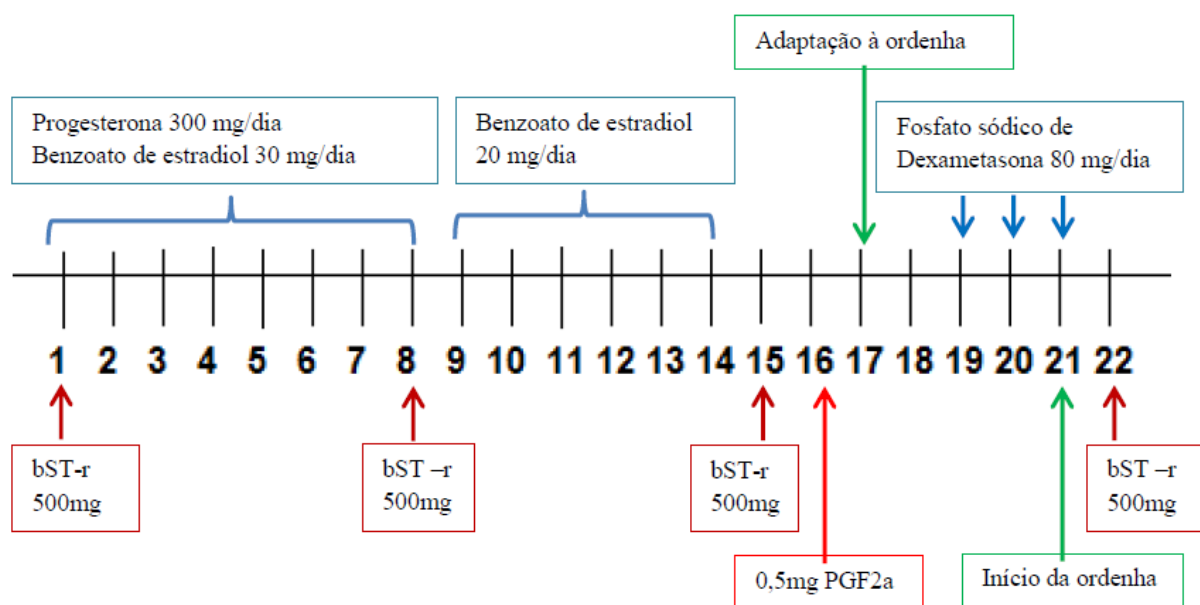
Foram utilizados 28 bovinos, fêmeas, entre segunda e quinta lactação, da raça Holandesa, com escore corporal variando entre 3,0 e 4,0, provenientes de quatro diferentes rebanhos, situados nos municípios de Mafra/SC (10 animais), Lages/SC (6 animais), Mirim Doce/SC (8 animais) e Rio Negro/PR (4 animais). O estudo foi conduzido entre junho de 2018 e outubro de 2019. Todos os animais foram submetidos a um período seco de no mínimo 60 dias. A alimentação fornecida nas propriedades era principalmente à base de silagem de milho, ração comercial para bovinos leiteiros (média de 6 kg por animal/dia), pastagem de aveia e azevém no inverno e milheto no verão, sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em dois grupos, um grupo controle e um grupo experimental de 14 animais cada. Em cada rebanho, as vacas eram alocadas em pares semelhantes para ordem de parto, peso vivo e capacidade produtiva, sendo que uma delas tinha data de parto prevista, e a outra estava vazia, e, portanto, recebia o tratamento de indução de lactação de forma a iniciarem a lactação em dias próximos.

No grupo controle (GC), as vacas foram acompanhadas desde o período pré-parto até os 300 dias de lactação, ou até que fosse realizada a secagem das mesmas, caso isso acontecesse em tempo inferior a 300 dias. Já o grupo experimental (GE) era composto por vacas escolhidas por meio de critérios reprodutivos, ou seja, animais que apresentaram problemas reprodutivos (repetições de cio) na última lactação (cinco ou mais inseminações mal sucedidas), problemas adquiridos de infertilidade, e que apresentavam bons índices produtivos segundo avaliação dos proprietários das mesmas nas lactações anteriores.

Todos os animais foram submetidos à palpação transretal e ultrassonografia, além de avaliação prévia do estado geral de saúde por meio de exame físico geral, hemograma e bioquímica sérica. Os animais que apresentaram alterações clínicas foram excluídos do experimento.

O protocolo de indução artificial de lactação utilizado está exposto na Figura 1.

Figura 1. Protocolo do grupo experimental (GE) de indução artificial à lactação conforme proposto por Mingoti et al. (2016)



Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Os hormônios foram aplicados pela via intramuscular. Após finalizado o protocolo de indução das vacas do grupo experimental, as mesmas receberam aplicação de somatotropina bovina recombinante (bST-r® 500 mg) a cada quinze dias durante todo o período de lactação. Ao iniciar a lactação, o leite era descartado durante 5 dias, enquanto era considerado colostro, e respeitando-se o período de carência da dexametasona aplicada.

4.1 MOMENTOS AVALIADOS

Em todos os momentos foram realizadas as análises do leite, avaliação clínica e reprodutiva e colheita de sangue para análise laboratorial, totalizando quinze momentos:

- M-21: nos animais do grupo controle (lactação natural) este momento foi coletado 21 dias antes da data prevista do parto e para o grupo experimental (indução artificial da lactação) foi na data do início do protocolo de indução);
- M0: primeiro dia de lactação;
- M15: 15 dias de lactação;
- M30: 30 dias de lactação;
- M45: 45 dias de lactação;
- M60: 60 dias de lactação;
- M75: 75 dias de lactação;

- M90: 90 dias de lactação;
- M120: 120 dias de lactação;
- M150: 150 dias de lactação;
- M180: 180 dias de lactação;
- M210: 210 dias de lactação;
- M240: 240 dias de lactação;
- M270: 270 dias de lactação;
- M300: 300 dias de lactação.

4.2 ANÁLISE DO LEITE

Para avaliação da produção de leite, foi realizada uma média quinzenal/mensal da produção na ordenha da manhã e da tarde nos momentos avaliados. Também foram colhidas amostras individuais para avaliação da composição do leite quanto à porcentagem de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e contagem de células somáticas em todos os momentos avaliados. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos com capacidade de 40 mL, com adição de conservante bronopol na forma de comprimido. Foram mantidas à temperatura ambiente por no máximo 7 dias até o envio e análise pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba/PR. A composição do leite foi analisada por espectrometria infravermelha transformada de Fourier, no DairySpec, (Bentley), enquanto a contagem de células somáticas foi realizada através de citometria de fluxo.

4.2 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA

A avaliação reprodutiva foi feita com auxílio de ultrassonografia, iniciando no M0 para o grupo experimental, e em todos os momentos seguintes até a inseminação artificial. O acompanhamento reprodutivo dos animais do grupo controle foi iniciado em M30, mantendo-se um período voluntário de espera (PVE) de no mínimo 45 dias. À medida que os animais demonstravam os sinais de estro, eles eram então submetidos à inseminação. Após a data da inseminação, o acompanhamento para diagnóstico de gestação era realizado após 30 dias. Os animais que não obtivessem diagnóstico positivo ou que não demonstrassem cio eram novamente examinados através da ultrassonografia, sendo aplicados hormônios conforme a fase do estro em que se encontravam para provocar o cio, quando eram novamente inseminados até que se obtivesse um diagnóstico positivo de gestação ou a vaca fosse descartada da reprodução, apenas encerrando a lactação. Animais que apresentavam

diagnóstico de metrite eram submetidos a tratamentos através de infusão uterina com antibióticos, para que pudessem retornar à vida reprodutiva.

4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLHEITA DE SANGUE

Foi realizada avaliação clínica por meio de exame físico geral dos animais, aferindo os parâmetros: frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de preenchimento capilar (TPC), avaliação da coloração das mucosas, estado de hidratação, palpação de linfonodos, frequência dos movimentos ruminais e temperatura retal em todos os momentos de coleta, para constatação de higidez. Todas as amostras de sangue foram colhidas no período da manhã, após a ordenha dos animais, que foram contidos em canzil, com auxílio de formiga/cabresto.

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular com sistema a vácuo, sendo que 12 mL foram acondicionados em tubos sem anticoagulante para obtenção de soro e 4 mL foram acondicionados em tubo contendo EDTA para obtenção do sangue total. Após centrifugação dos tubos sem anticoagulante a 2000g durante 10 minutos, as amostras de soro foram acondicionadas em alíquotas e armazenadas em freezer à temperatura de -20°C até a realização das dosagens laboratoriais.

4.4 METABOLISMO OXIDATIVO

Para determinação do marcador de peroxidação lipídica foi realizada a mensuração das concentrações de malondialdeído sérico nos diversos momentos avaliados, as quais foram determinadas por meio de reação de cor utilizando o ácido tiobarbitúrico, segundo técnica descrita por Esterbauer e Cheeseman (1990). Os valores foram obtidos por meio da determinação de curva padrão.

4.5 BIOQUÍMICA CLÍNICA

A bioquímica sérica foi realizada abrangendo a avaliação de lesão e função hepática, função renal e lipidograma, por meio das dosagens de AST (aspartato aminotransferase - método Cinético UV), gama glutamiltransferase (método SZASZ Modificado (IFCC)), proteína sérica total (método Biureto), albumina (método Verde Bromocresol (VBC), glicose (COD-Trinder – Kit Labtest®), ureia (Cinético UV), creatinina (Jaffé modificado), fosfatase alcalina (método ROY modificado), creatinaquinase ((CK) método Cinético (UV)), colesterol

(método Enzimático Colorimétrico - COD - PAP) e triglicérides (método Enzimático Colorimétrico). Além disso, foram determinadas as concentrações de minerais, tais como cálcio (Colorimétrico de Ponto Final (Arsenazo III)), fósforo (método UV de Ponto Final) e magnésio (método MANN YOE). Todas as análises foram realizadas por meio de espectrofotometria utilizando kits comerciais (Bioclin® e Labtest®) em analisador automático (Labmax Plenno, Labtest).

Foram realizadas as mensurações dos corpos cetônicos em amostra de sangue total por meio de tiras comerciais para mensuração de cetonas, utilizando-se um aparelho glicosímetro (FreeStyle® Optium Neo).

4.6 HEMOGRAMA

Para a realização de hemograma, foram selecionados sete animais de cada grupo, provenientes de dois rebanhos diferentes, e dos mesmos foram realizadas as colheitas de sangue total em todos os momentos avaliados.

As amostras de sangue total foram acondicionadas em tubos contendo EDTA para a realização do hemograma. A contagem total de eritrócitos e leucócitos e a dosagem de hemoglobina foram realizadas em contador automático (SDH-3 Vet, Labtest). O volume globular foi mensurado pelo método do microhematócrito (JAIN, 1993). A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em esfregaço sanguíneo com auxílio de microscópio óptico, assim como as avaliações morfológicas das células. Foram avaliados também os índices hematimétricos volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM). A determinação da proteína plasmática total foi realizada por refratometria segundo JAIN (1993). Mensurou-se o fibrinogênio por meio de refratometria pelo método de precipitação pelo calor (WEISS e WARDROP, 2010).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento seguiu o delineamento em blocos casualizados, sendo o bloco o rebanho, com dois tratamentos e 14 repetições em cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância, com medidas repetidas no tempo pelo PROC MIXED do pacote estatístico SAS. Os dados de concentração de fósforo, GGT, CK, AST, triglicérides, ureia, creatinina e plaquetas foram transformados em logaritmo da concentração, pois não apresentaram distribuição normal dos resíduos. O modelo foi composto pelo rebanho (bloco)

+ tratamento (indução/controle) + dia de coleta + a interação tratamento * dia. Os dados de magnésio foram analisados pelo teste não-paramétrico de Friedman. Os dados de bastonetes, basófilos, eosinófilos e monócitos foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. As análises foram realizadas por meio do Software SAS® OnDemand for Academics (SAS Institute Inc., 2015).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DO LEITE

Os resultados da produção de leite estão expostos na Tabela 1 e Figura 2.

Tabela 1. Médias±erro-padrão para a produção de leite em kg/vaca/dia em vacas com lactação natural (GC) e com lactação induzida artificialmente (GE).

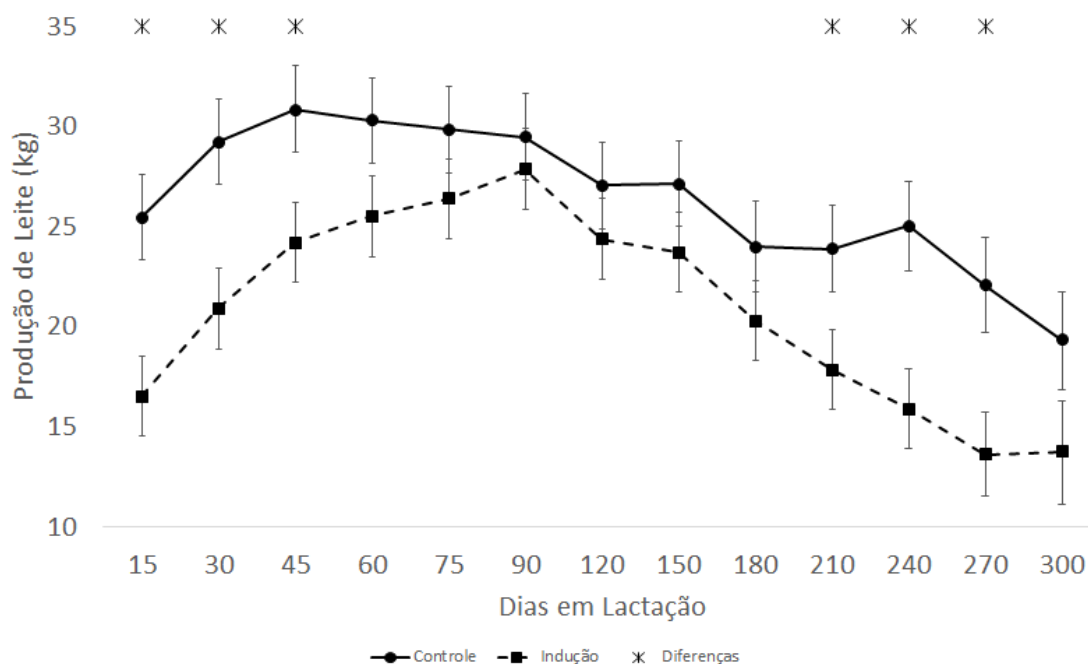
Momento	GC	GE	% do GE sobre o GC
M15	25,48±2,14	16,54±2,01	64,93%
M30	29,27±2,14	20,91±2,01	71,46%
M45	30,88±2,14	24,21±2,01	78,41%
M60	30,30±2,14	25,53±2,01	84,26%
M75	29,85±2,14	26,39±2,01	88,40%
M90	29,49±2,14	27,89±2,01	94,56%
M120	27,07±2,14	24,39±2,01	90,11%
M150	27,15±2,14	23,74±2,01	87,46%
M180	24,01±2,25	20,31±2,01	84,60%
M210	23,90±2,14	17,89±2,01	74,83%
M240	25,03±2,21	15,91±2,01	63,58%
M270	22,08±2,35	13,64±2,08	61,77%
M300	19,32±2,43	13,73±2,59	71,10%
Média	26,45^a	20,85^b	78,11%

^{ab}Letras diferentes indicam diferença entre grupos; *indicam diferença entre momentos.

Tratamentos p=0,0042; momentos p<0,0001; interação p=0,5939.

Fonte: elaborado pela autora, 2020.

Figura 2. Médias e erro-padrão de produção de leite de vacas dos grupos controle e experimental em diferentes momentos de lactação. Asteriscos indicam diferença estatística entre os grupos nos momentos avaliados ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Todos os animais submetidos ao protocolo de indução artificial de lactação (GE) obtiveram sucesso na sua produção. Foi observada diferença significativa na produção de leite entre os tratamentos nos diferentes momentos da análise e também na produção de leite entre grupos corrigida para energia (0,0196), sendo que foi maior para o grupo controle do que para as vacas induzidas, e estas alcançaram 78% da produção média das vacas controle. O mesmo resultado foi obtido por Mellado et al. (2006), que utilizou protocolo semelhante em vacas da raça holandesa, porém, ao invés do benzoato de estradiol, no estudo de Mellado et al. (2006) foi utilizado protocolo a base de cipionato de estradiol. Freitas et al. (2010) relata melhores resultados na indução artificial de lactação com o uso de benzoato ao invés de cipionato de estradiol, porém, os resultados se mostraram bastante semelhantes. Ramgattie et al. (2014) utilizou em seu estudo um protocolo de indução artificial de 12 dias em vacas de cruzamento Holandês x Jersey e Holandês x Jamaica Hope, e obteve 78% de sucesso na lactação dos animais, considerando como critério de sucesso o animal atingir 7 kg/dia no pico de lactação, tendo como critério que esse valor representaria de 33 a 50% da produção normal média de uma vaca de leite no rebanho utilizado. Outro trabalho cita que a produção de leite de vacas induzidas pode alcançar 82% da produção em lactações naturais do mesmo animal (SMITH e SCHANBACHER, 1973).

Até os 45 dias de lactação, a produção de leite do grupo controle mostrou-se significativamente maior, sendo este o momento do pico de lactação. Já no GE, o pico de lactação foi alcançado aos 90 dias de lactação. Após esse momento, a produção de ambos os grupos declinou gradativamente, porém foi verificado um declínio maior para o grupo experimental a partir dos 210 dias de lactação, que se manteve até os 270 dias com diferença significativa para o grupo controle. Aos 300 dias já não se constatava diferença estatística, o que pode ser devido à secagem de alguns animais do grupo experimental devido à baixa produção e/ou avançada gestação.

Os resultados da indução artificial de lactação ainda possuem grandes variações entre os animais, e ainda não se sabe ao certo o mecanismo. Porém, acredita-se que os animais que possuem boas respostas e produzem quantidades consideráveis de leite posteriormente, passaram por todos os estágios de diferenciação do tecido mamário durante o protocolo hormonal, enquanto os que não têm boa resposta não tiveram todo o estímulo de diferenciação do tecido mamário. O tecido mamário precisa adquirir a capacidade de síntese de lactose e gordura nesse período (CROOM et al., 1976).

No presente estudo, nas vacas do grupo controle o pico de lactação foi atingido aos 45 dias de lactação, com média de 30,88 kg de leite/vaca/dia, enquanto no grupo experimental, o pico de lactação foi atingido somente aos 90 dias, com média de 27,88 kg de leite/vaca/dia. (Magliaro et al. 2004) observou em vacas da raça holandesa induzidas, um pico de $32,2 \pm 11,5$ kg/d aos 125 ± 47 dias de lactação e ainda constatou que apesar de os animais demorarem mais tempo para alcançar o pico de lactação, a duração da mesma foi normal, em torno de 289 ± 74 dias, porém, o DEL foi menor que das vacas controle, em parte devido à concepção precoce das mesmas logo que iniciaram a lactação. No presente estudo, quatro animais do GE encerraram a lactação aos 270 dias, e um aos 240 dias, três por baixa produção e dois por estarem em estado avançado da gestação.

Não foi observada diferença significativa para os teores de gordura ($p=0,3992$), proteína ($p=0,4034$) e escore de células somáticas ($p=0,0975$) entre grupos ao longo dos momentos avaliados. Não houve diferença nos teores de lactose entre os grupos ($p=0,05282$), porém houve diferença entre momentos ($p<0,0001$) e interação entre momento de coleta e tratamento ($p<0,0001$), demonstrando que a lactose tendeu a diminuir no grupo experimental a medida que a lactação avançou. Essa redução nos índices de lactose pode estar relacionada a um aumento observado no ECS para o grupo experimental. O aumento nas células somáticas provoca danos ao epitélio mamário, reduzindo a capacidade de síntese de lactose, e consequentemente, causando diminuição na produção de leite (AULDIST e HUBBLE, 1998).

Não se observou diferença entre sólidos totais entre ambos os grupos ($p=0,8897$), porém, observou-se diferença entre momentos ($p<0,0001$) e interação entre momento coletado e tratamento, acompanhando o observado nos índices de lactose.

Narendran et al. (1974) também não observaram diferença nas porcentagens de gordura, proteínas e lactose do leite de vacas induzidas artificialmente à lactação quando comparadas com primíparas em início de lactação.

A composição do leite e a contagem de células somáticas de vacas induzidas à lactação foram semelhantes à de vacas de lactações naturais, com valores dentro do esperado para a raça holandesa (MAGLIARO et al., 2004; FREITAS et al., 2010).

5.2 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA

Dos 14 animais do grupo experimental, 11 foram considerados aptos à reprodução e foram realizadas aplicações de hormônios para que os animais entrassem no cio e pudessem ser submetidas à inseminação artificial. Os outros três animais foram retirados da reprodução por opção dos proprietários. Obtiveram-se seis diagnósticos positivos de gestação dentre esses animais, o que corresponde a 54,54% de taxa de prenhez considerando apenas os 11 animais. Porém, dois dos animais abortaram antes de encerrarem a lactação, portanto, dos 11 animais, apenas quatro iniciaram nova lactação após parição. Em relação aos outros cinco animais, após inúmeras tentativas, optou-se por desistir dos mesmos no quesito reprodução.

Dos animais do grupo controle, os 14 foram considerados aptos a continuar na reprodução, e após o período voluntário de espera, foi realizada a ultrassonografia e os mesmos foram sendo inseminados a medida que apresentavam cio. Se necessário, era realizada a aplicação de hormônios nos animais para indução do estro. Obteve-se 85,71% de taxa de prenhez entre os animais do grupo controle ao longo de todo o período de lactação.

Em estudo conduzido por Magliaro et al. (2004), observou-se um sucesso de 93% de taxa de prenhez nas vacas de indução, diferente do observado de 54,54%, porém, no presente estudo os animais foram selecionados devido ao seu histórico reprodutivo, ou seja, animais que já possuíam algum tipo de distúrbio prévio que impossibilitou que concebessem em lactações anteriores. O mesmo autor relatou a alta taxa de sucesso devido ao aumento gradual na produção leiteira, o que permite que tenham tempo para ajustar seu metabolismo, e também devido a melhores condições corporais.

As vacas com maior produção leiteira apresentam maior requerimento nutricional, e com isso ocorre aumento na circulação hepática, que acaba degradando mais rapidamente o

estrógeno e a progesterona circulantes, reduzindo seus níveis, que tem como consequência a redução na taxa de concepção, aumentos na perda gestacional e redução na manifestação do estro (WILTBANK et al., 2006). Os animais de indução apresentaram uma curva de lactação diferente, na qual a produção cresce gradualmente, diferente dos animais do grupo controle, com isso, sua exigência metabólica e seu consumo de alimentos não é elevado de forma abrupta com o evento da lactação, e seu metabolismo não acelera tão rapidamente. Nesse sentido, pode-se justificar o fato dos animais de indução, que na lactação anterior não conseguiram conceber, terem obtido 54,54% de taxa de prenhez durante a lactação induzida artificialmente.

5.3 METABOLISMO OXIDATIVO

Os valores de MDA estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2. Médias±erro-padrão para as concentrações de malondialdeído (MDA) ao longo dos momentos em vacas com lactação natural (GC) e com lactação induzida artificialmente (GE).

Momento	MDA $\mu\text{mol/L}$		Média
	GC	GE	
M-21	0,65±0,08	0,53±0,08	0,5909
M0	0,89±0,08	0,69±0,08	0,7912*
M15	0,74±0,08	0,71±0,08	0,7263*
M30	0,79±0,08	0,74±0,08	0,7676*
M45	0,76±0,08	0,71±0,08	0,7382*
M60	0,67±0,08	0,83±0,08	0,7487*
M75	0,70±0,08	0,83±0,08	0,7632*
M90	0,75±0,08	0,71±0,08	0,7313*
M120	0,64±0,08	0,70±0,08	0,6696*
M150	0,81±0,08	0,67±0,08	0,7415*
M180	0,75±0,08	0,61±0,08	0,6828*
M210	0,70±0,08	0,55±0,08	0,6282
M240	0,47±0,08	0,57±0,08	0,5208
M270	0,55±0,08	0,59±0,08	0,5712
M300	0,44±0,1	0,60±0,1	0,5179

Grupos $p=0,7609$; momentos $p<0,0008$; interação $p=0,2673$.

*Asteriscos indicam momentos significativamente superiores aos demais.

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Para os valores de MDA, não foi detectada diferença estatística entre os grupos, porém foi observada diferença entre os diversos momentos analisados, sendo que em M-21 as concentrações de MDA se encontraram significativamente mais baixas, tendo se elevado no momento do início da lactação (M0) e seguiram significativamente mais altas até os 180 dias

de lactação (M180) para ambos os grupos. Após esse período, no terço final de lactação, os níveis de MDA diminuíram novamente, mantendo-se estáveis até o final da mesma. Não houve interação entre tratamento*momento ($p=0,2673$).

As concentrações de MDA podem trazer informações valiosas a respeito da homeostase dos animais durante períodos adaptativos, além da utilização dos parâmetros metabólicos convencionais, como os valores de glicose e ácidos graxos não esterificados, que tem suas concentrações facilmente alteradas por mudanças hormonais e nutricionais (CASTILLO et al., 2006). Colakoglu et al. (2017) observou em vacas da raça holandesa um crescimento gradativo na concentração de MDA nos 21 dias anteriores ao parto, atingindo um aumento significativo no momento do parto, que declina gradativamente nas semanas seguintes, que foi semelhante ao observado nesse estudo, em que os animais tiveram valores significativamente mais elevados de MDA no M0 do que em M-21, e para o grupo controle, no momento do parto foram os valores mais altos de MDA de toda a lactação. Castillo et al. (2006) compararam malondialdeído plasmático e antioxidantes totais entre vacas no início (primeiras oito semanas), com produção média de 35 kg de leite/dia e no final do período de lactação (sete meses), com produção média de 18 kg de leite/dia, não encontrando diferença significativa nos valores entre esses animais, porém notou um decréscimo gradual durante as oito primeiras semanas nos valores, que reflete a intensidade das alterações metabólicas que ocorrem nesse período, com as mudanças na regulação endócrina e o início da lactação.

5.4 BIOQUÍMICA CLÍNICA

5.4.1 Glicose, colesterol, triglicérides e beta-hidroxibutirato (BHBA)

Para os valores de beta-hidroxibutirato (BHBA) (Tabela 3) não foi observada diferença entre tratamentos ($p=0,2074$), porém houve diferença entre os momentos de colheita ($p<0,0001$), sendo que essa diferença foi observada apenas ao final da lactação, a partir do M240 até o M300, quando o grupo controle apresentou médias significativamente maiores nas concentrações de BHBA. Kaneko et al. (2008) citaram como normais para bovinos valores de aproximadamente 4,27 mg/dL de BHBA.

Tabela 3. Médias e erro-padrão para as concentrações de beta-hidroxibutirato (BHBA) e glicose ao longo dos momentos em vacas com lactação natural (GC) com lactação induzida artificialmente (GE). Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento. Asteriscos indicam diferença entre momentos.

Parâmetro	Beta-hidroxibutirato mg/dL			Glicose	
Momento	GC	GE	Média	GC	GE
M-21	4,86±0,73	4,13±0,72	4,49	47,55±3,08 ^b	57,5±3,56 ^a
M0	5,82±0,75	3,99±0,72	4,9	53,97±3,25 ^b	92,43±3,52 ^a
M15	6,58±0,75	5,47±0,72	6,02	45,91±3,08 ^b	56,82±3,12 ^a
M30	5,99±0,73	6,52±0,72	6,25	46,48±3,08 ^b	66,21±3,20 ^a
M45	6,39±0,73	5,85±0,72	6,12	58,76±3,47	62,89±3,12
M60	6,75±0,75	6,07±0,72	6,4	57,55±3,08	58,32±3,12
M75	7,22±0,71	5,77±0,72	6,49	49,55±3,08	55,96±3,12
M90	6,48±0,71	5,92±0,72	6,19	47,55±3,30	51,18±3,12
M120	4,69±0,71	4,32±0,74	4,5	48,78±3,17	54,82±3,22
M150	5,44±0,71	6,22±0,72	5,82	46,19±3,08	47,61±3,12
M180	4,60±0,75	6,01±0,74	5,3	48,94±3,17	41,11±3,12
M210	5,25±0,73	3,91±0,72	4,58	46,30±3,17	38,46±3,12
M240	6,18±0,71	4,06±0,72	5,11*	47,88±3,17	42,89±3,12
M270	5,71±0,73	3,32±0,72	4,51*	44,98±3,08 ^a	34,58±3,21 ^b
M300	4,68±0,75	2,42±0,72	3,55*	38,58±3,59	40,77±3,99

Glicose: tratamento p=0,0125; momento p<0,0001; interação p<0,0001; Beta-hidroxibutirato: tratamento p=0,2074; momento p<0,0001; interação p=0,0545. Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Nas vacas de lactações naturais foi observado aumento nos valores de BHBA já no dia do parto, e os mesmos continuaram se elevando até aproximadamente os 75 dias de lactação. O mesmo foi observado por Quiroz Rocha et al. (2009) que constataram que os corpos cetônicos continuam se elevando até a sexta semana de lactação, e depois começar a declinar. No GE só foi observado aumento claro nos valores a partir dos 15 dias de lactação, e o mesmo continuou a subir, porém de forma menos acentuada e mais gradativa. O aumento na concentração de corpos cetônicos aos 15 dias de lactação para ambos os grupos está relacionado ao balanço energético negativo do início da lactação (RADOSTITS et al., 2007). Lago et al. (2004) observaram concentrações de BHBA entre 1,93 e 4,01 mg/dL, durante as oito primeiras semanas de lactação, sendo valores considerados baixos quando comparados a outros autores. Observou, também um decréscimo gradual durante esse período na concentração de corpos cetônicos, sendo que na primeira semana foi quando os animais tiveram os valores mais altos. Apenas um animal do grupo controle desse experimento apresentou níveis indicativos de cetose clínica, chegando a atingir o valor de 34,35 mg/dL aos 15 dias de lactação, porém sem sinais clínicos relacionados. Radostits et al. (2007) citaram

que valores acima de 14,58 mg/dL indicam cetose subclínica e predisõem ao aparecimento de deslocamento de abomaso, e valores acima de 26,04 mg/dL indicam cetose clínica.

Na análise dos valores de glicose (Tabela 3), pôde-se observar diferença entre os grupos ($p=0,046$) nos momentos M-21, M0, M15 e M30, sendo que houve também diferença entre momentos ($p<0,0001$) e interação momento*tratamento ($p<0,0001$). Nos quatro primeiros momentos de avaliação, o grupo que recebeu o protocolo de indução de lactação manteve níveis mais elevados de glicose na corrente sanguínea. Porém, apenas em M0 os valores estiveram acima dos valores de referência de 45 – 75 mg/dL (KANEKO et al., 2008), apresentando concentração média+ erro-padrão de $92,42\pm 3,52$ mg/dL. Já em M270 o grupo experimental apresentou valores abaixo dos limites de referência estabelecidos por Kaneko et al. (2008), com média de 36,15 mg/dL, que diferiram do grupo controle.

No momento do parto foi observada elevação nos níveis de glicose do grupo controle, a qual provavelmente está relacionada à liberação de cortisol endógeno, provocado pelo estresse do parto (QUIROZ ROCHA et al., 2009) e que leva à degradação de glicogênio hepático (LAGO et al., 2004). O mesmo efeito sobre a glicose após o parto foi observado em outros estudos, sendo que ocorre elevação na semana após o parto, que diminui já na segunda semana (LAGO et al., 2004). No grupo experimental ocorreu aumento significativo e acima dos limites de referência para a espécie no início da lactação. Esse aumento provavelmente ocorreu devido às altas doses de corticoides exógenos administradas nos últimos dias da aplicação do protocolo de indução artificial de lactação, que tendem a provocar uma redução na captação e utilização da glicose, além de estimular a gliconeogênese (RANG et al., 2004).

Quanto ao colesterol (

Tabela 4), não houve diferença entre grupos ($p=0,5139$), porém observou-se uma diferença entre momentos ($p<0,0001$), e uma interação entre tratamento*momento ($p=0,038$).

Observou-se queda nos valores de colesterol mais acentuada no grupo controle que no grupo experimental, porém sem haver diferença estatística, no momento do início da lactação, que foi aumentando gradualmente suas concentrações ao longo do período de lactação, até que em M45 estava significativamente mais alta que no GE. Em praticamente toda a lactação os valores de colesterol do grupo controle se mantiveram mais elevados que os valores do grupo experimental.

Tabela 4. Média das concentrações de colesterol + erro-padrão; média das concentrações de triglicerídeos + desvio padrão ao longo dos momentos em vacas com lactação natural (GC) com lactação induzida artificialmente (GE); letras diferentes representam diferenças entre os grupos no momento avaliado.

Parâmetro	Colesterol mg/dL		Triglicérides mg/dL*	
	GC	GE	GC	GE
M-21	100,4±12,16	103,65±12,69	19,50±8,35	18,57±10,91
M0	62,12±12,43	86,05±12,78	13,75±9,52	20,93±13,58
M15	83,68±12,16	94,6±12,52	8,64±3,56	8,36±5,39
M30	108,90±12,71	113,46±12,52	23,57±26,76	13,07±8,52
M45	145,91±17,35 ^a	103,14±12,64 ^b	32,36±30,56 ^a	9,57±6,03 ^b
M60	146,12±12,32 ^a	114,32±12,52 ^b	10,57±8,21	17,21±29,13
M75	136,87±12,31	135,32±12,52	22,14±20,09 ^a	10,71±4,04 ^b
M90	146,11±12,16	134,46±12,52	13,71±9,71 ^a	8,78±3,35 ^b
M120	156,72±12,35	139,53±12,52	15,92±12,80	18,50±14,71
M150	159,75±12,16	146,11±12,52	14,07±7,02	13,36±4,45
M180	137,29±12,36	135,68±12,52	16,86±16,89	14,36±5,01
M210	134,68±12,16	128,25±12,52	17,64±17,05	14,50±8,58
M240	141,47±12,16	128,89±12,52	21,28±20,26	13,28±7,49
M270	154,18±12,16 ^a	119,52±12,74 ^b	13,78±3,21	24,31±16,88
M300	146,33±13,07	143,58±12,69	13,18±3,46 ^b	34,37±26,39 ^a

Colesterol: tratamento $p=0,5139$; momento $p<0,0001$; interação $p=0,038$ Triglicerídeos: tratamento $p=0,091$; momento $p<0,0001$; interação $p<0,0001$. *Os dados de triglicerídeos sofreram transformação logarítmica para análise estatística. Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Os valores de colesterol auxiliam no diagnóstico do balanço energético em que se encontra o animal. Há relatos que esses valores tendem a diminuir e a vaca entrar em hipocolesterolemia devido às mudanças fisiológicas e metabólicas que ocorrem no tecido mamário no início da lactação (KANEKO et al.; 2008). Vacas com cetose tendem a apresentar baixos níveis de colesterol. Considera-se como referência em bovinos valores entre 80 e 120 mg/dL (KANEKO et al., 2008), porém, West et al. (1991) relatou valores de 209,82 para vacas em lactação Holandês e Jersey sem aplicação de bST-r, e 193,14 mg/dL para vacas recebendo o bST-r. Paiano et al. (2018) analisando vacas de lactações fisiológicas e de indução aos 21 dias de lactação não encontraram valores diferentes de colesterol entre os grupos, e observou valores de 97,17±8,57 mg/dL para as vacas controle, e 78,18±7,56 para as vacas de indução, sendo semelhante aos valores observados em período similar da lactação.

Para os valores de triglicérides (Tabela 4), não houve diferença entre tratamentos ($p=0,091$), porém houve diferença entre momentos ($p<0,0001$) e interação tratamento*momento ($p<0,0001$). Observou-se em M45 e M75 valores acima dos de referência para o GC. Já para o GE, as concentrações extrapolaram os limites em M-21, e M0.

West et al. (1991) conduziu estudo em que observou um aumento de 89% nos triglicerídeos de vacas holandesas recebendo bST-r durante a lactação quando comparadas com vacas sem receber, o que poderia estar relacionado a maior mobilização de lipídios relacionada ao aumento na perda de peso e perda de escore corporal. No presente estudo não se observou o mesmo efeito provavelmente pelo fato de que as vacas que recebiam o bST-r serem animais de lactações induzidas, em que a produção era menor que dos animais controle, e por isso, não houve tanta mobilização de gorduras corporais para a produção de leite quanto no GC.

4.4.2 Proteína sérica total, albumina e globulina

Para os valores de albumina (Tabela 5), foi detectada diferença estatística entre os tratamentos ($p=0,0427$), entre momentos ($p=0,0008$) e interação momento*tratamento ($p=0,0002$). Para o grupo controle a albumina manteve-se relativamente estável durante todo o período de lactação. Porém, para as vacas do GE, entre o M180 e M300 os valores foram abaixo do limite de referência para a espécie segundo Kaneko et al. (2008), que citam valores entre 3,0 e 3,6 mg/dL como normais para bovinos. Eppard et al. (1997) relatam valores menores de albumina em vacas tratadas com aplicações de bST-r. Essa redução nos valores de albumina pode ser explicada pelo mecanismo de ação do bST-r, que acaba redirecionando os aminoácidos disponíveis para produzir os componentes do leite (VICINI et al., 1990). Feijó et al. (2016) citam como normais para vacas de média e alta produção valores de $2,80\pm0,05$ g/dL e $3,04\pm0,06$ g/dL, respectivamente.

Nas concentrações sanguíneas de globulinas (Tabela 5), foi detectada diferença entre os tratamentos ($p=0,0011$) e uma interação momento*tratamento ($p<0,0001$). No momento do parto os valores do grupo controle estavam abaixo dos valores de referência estabelecidos por Kaneko et al. (2008), que citam como normais valores entre 3,0 a 3,5 mg/dL, sendo significativamente menores que os do grupo experimental. Em outro estudo os valores de globulinas de vacas da raça holandesa no período pré-parto, momento do parto e pós-parto, foi observado decréscimo significativo dos valores de globulinas no dia do parto (FAGLIARI et al., 1998). Em outros momentos, houve aumento novamente nas concentrações no GC, atingindo valores mais elevados em M60, M75 e M90, M180, M240 e M270, diferentemente do grupo experimental, que se manteve dentro do intervalo de referência estabelecido por Kaneko et al. (2008). Fagliari et al. (1998) citam valores de $4,66\pm0,62$ g/dL de globulinas para vacas 30 dias pós-parto, um pouco acima do estabelecido por Kaneko et al. (2008) como normal para bovinos, sugerindo que mesmo com a diferença que existiu entre grupos, ambos

poderiam ser considerados comportamentos normais para os valores. (VICINI et al., 1990) relataram aumento nos valores de globulinas de vacas tratadas com bST-r, já Paiano et al. (2018) citam que não encontraram diferença entre vacas tratadas ou não com bST-r. Os animais do GC apresentaram média e erro-padrão de $4,27 \pm 0,30$ mg/dL de globulinas, contra $3,74 \pm 0,30$ mg/dL do GE, sendo bastante semelhantes ao observado por Paiano et al. (2018) ($4,92 \pm 0,3$ mg/dL controle; $4,41 \pm 0,24$ mg/dL indução de lactação).

Os valores de proteína sérica total (Tabela 5) refletem a albumina e globulinas. Foram encontradas diferenças entre os tratamentos ($p=0,0003$) e uma interação momento*tratamento ($p<0,0001$). Os tratamentos diferiram nos momentos onde havia sido observada diferença para os valores de albumina ou globulinas.

Tabela 5. Médias e erro-padrão para as concentrações de albumina, globulinas e proteína sérica total para GC e GE ao longo de todos os momentos de colheita. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos no momento.

Parâmetro	Albumina mg/dL		Globulina mg/dL		PST mg/dL	
	GC	GE	GC	GE	GC	GE
Momento						
M-21	$3,01 \pm 0,12$	$2,82 \pm 0,12$	$3,57 \pm 0,29$	$4,38 \pm 0,30$	$6,77 \pm 0,33$	$7,36 \pm 0,34$
M0	$3,20 \pm 0,13$	$2,92 \pm 0,12$	$2,95 \pm 0,30^b$	$4,39 \pm 0,29^a$	$6,10 \pm 0,35^b$	$7,27 \pm 0,34^a$
M15	$2,84 \pm 0,12$	$2,97 \pm 0,12$	$3,40 \pm 0,29$	$3,87 \pm 0,29$	$6,21 \pm 0,33$	$6,81 \pm 0,34$
M30	$3,03 \pm 0,12$	$3,08 \pm 0,12$	$3,89 \pm 0,29$	$4,19 \pm 0,29$	$6,99 \pm 0,33$	$7,23 \pm 0,34$
M45	$2,87 \pm 0,12$	$2,94 \pm 0,12$	$4,51 \pm 0,29$	$4,12 \pm 0,29$	$7,53 \pm 0,33$	$7,02 \pm 0,34$
M60	$3,09 \pm 0,12$	$3,05 \pm 0,12$	$4,66 \pm 0,29^a$	$3,38 \pm 0,30^b$	$7,71 \pm 0,33^a$	$6,59 \pm 0,34^b$
M75	$3,01 \pm 0,12$	$3,29 \pm 0,13$	$5,31 \pm 0,29^a$	$3,17 \pm 0,29^b$	$8,28 \pm 0,33^a$	$6,88 \pm 0,34^b$
M90	$2,88 \pm 0,12^b$	$3,25 \pm 0,13^a$	$5,16 \pm 0,29^a$	$3,33 \pm 0,29^b$	$8,21 \pm 0,33^a$	$6,66 \pm 0,34^b$
M120	$3,23 \pm 0,12$	$3,19 \pm 0,13$	$4,28 \pm 0,30$	$3,75 \pm 0,29$	$7,45 \pm 0,34$	$7,02 \pm 0,34$
M150	$3,01 \pm 0,12$	$2,80 \pm 0,12$	$4,32 \pm 0,30$	$3,90 \pm 0,29$	$7,35 \pm 0,33$	$6,66 \pm 0,34$
M180	$3,25 \pm 0,12^a$	$2,65 \pm 0,12^b$	$4,78 \pm 0,30^a$	$3,69 \pm 0,29^b$	$8,21 \pm 0,33^a$	$6,31 \pm 0,34^b$
M210	$3,09 \pm 0,12^a$	$2,52 \pm 0,12^b$	$4,36 \pm 0,33$	$3,90 \pm 0,29$	$7,92 \pm 0,33^a$	$6,38 \pm 0,34^b$
M240	$3,01 \pm 0,12^a$	$2,56 \pm 0,12^b$	$4,71 \pm 0,31^a$	$3,36 \pm 0,29^b$	$8,21 \pm 0,33^a$	$5,88 \pm 0,34^b$
M270	$3,15 \pm 0,12^a$	$2,53 \pm 0,13^b$	$4,67 \pm 0,29^a$	$3,17 \pm 0,30^b$	$7,78 \pm 0,33^a$	$5,66 \pm 0,35^b$
M300	$3,39 \pm 0,14^a$	$2,95 \pm 0,16^b$	$3,51 \pm 0,32$	$3,58 \pm 0,38$	$7,02 \pm 0,38$	$6,62 \pm 0,44$

Albumina: tratamento $p=0,0427$; momento $p=0,0008$; interação $p=0,0002$; Globulina: tratamento $p=0,0011$; momento $p=0,304$; interação $p<0,0001$; PST: tratamento $p=0,0003$; momento $p=0,1553$; interação $p<0,0001$; Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

4.4.3 Aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e creatinaquinase (CK)

Para os valores de AST (Tabela 6), não se observou diferença estatística entre os grupos ($p=0,9565$), apenas entre momentos ($p=0,0004$) e uma interação momento*tratamento ($p<0,0001$). Porém, em todos os momentos os valores de AST se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie, segundo Kaneko et al. (2008), que estão entre 78 e 132 UI/L. Os valores médios mais altos encontrados durante o período de lactação foram de 127 UI/L nos animais do grupo controle em M45.

Foram observadas médias de 73,79 UI/L para o GC, e 68,61 UI/L para o GE, muito semelhante ao encontrado por Paiano et al. (2018) para vacas induzidas à lactação e controle.

Valores altos de AST estão relacionados a lesões hepáticas e musculares, pois a AST é uma enzima presente no citosol e mitocôndrias das células (KANEKO et al., 2008). As diferenças encontradas entre alguns momentos de colheita não aparentam ter significado clínico para os animais. A AST se eleva em geral em casos avançados de esteatose hepática, na qual há grande comprometimento dos hepatócitos. Nesses casos há aumento também dos triglicerídeos hepáticos (LAGO et al., 2004). Contudo, nos animais avaliados não se observou esse comportamento de AST e triglicerídeos. Há ainda grande variação nos valores considerados normais de AST para vacas de leite no Brasil (GERLOFF, 1986), sendo que Lago et al. (2004) observaram valores entre 53,19 e 99,69 UI/L em vacas nas primeiras oito semanas de lactação.

Souza (1997) observou para vacas das raças Girolando e Holandês, entre animais de três meses e 72 meses valores variando entre 25,50 e 41,91 UI/L, e Gerloff (1986) considera valores acima de 100 UI/L indicativos de lipídose hepática.

Não houve diferença entre grupo controle e experimental para FA ($p=0,8246$), porém houve efeito de momento ($p<0,0001$) e interação momento*tratamento ($p<0,0001$), sendo que no momento do início da lactação, o grupo experimental apresentou valores mais elevados que o GC (Tabela 6), porém ainda dentro do estabelecido por Kaneko et al. (2008), que citam valores entre 0 e 488 UI/L de FA como normais para bovinos. Esse discreto aumento pode ter sido causado por uma intensa metabolização hepática das altas doses de corticoides aplicados nos dois dias que antecederam a colheita e no próprio dia da colheita (M0) referentes ao protocolo, visto que a maior parte da metabolização e inativação dos corticoides é realizada pelo fígado (GANDRA, 2009; KATZUNG, 2017).

Tabela 6. Médias e erro-padrão dos valores de fosfatase alcalina (FA); médias e desvio-padrão dos valores de aspartato aminotransferase (AST) ao longo dos momentos para o GC e GE; Letras diferentes na linha indicam diferença entre grupos nos momentos.

Momento	FA		AST*	
	GC	GE	GC	GE
M-21	39,82±4,43	32,42±4,53	76,55±33,01	63,16±18,82
M0	34,92±4,52 ^b	60,93±4,45 ^a	87,13±31,82 ^a	62,68±18,72 ^b
M15	28,41±4,38	30,68±4,12	63,30±31,33	70,77±19,09
M30	30,41±4,36	30,60±4,12	101,87±42,07	71,84±20,17
M45	35,19±4,33	24,60±4,12	127,97±97,02	66,28±13,67
M60	30,35±4,07	29,03±4,12	68,58±36,12	64,39±14,48
M75	41,05±4,15	32,68±4,35	65,88±20,49	63,57±18,07
M90	40,28±4,27	32,36±4,30	58,47±1671 ^b	81,11±26,74 ^a
M120	37,53±4,08	37,03±4,12	64,14±16,32	67,96±19,62
M150	36,38±4,01	37,18±4,12	73,45±19,92 ^a	54,88±15,81 ^b
M180	33,34±4,10	40,91±4,29	73,12±19,81	64,66±16,73
M210	38,20±4,20	44,96±4,12	61,33±21,83	70,92±33,45
M240	41,91±4,31	43,17±4,21	66,79±11,97	59,33±21,86
M270	57,39±4,28	46,09±5,07	58,69±12,13	91,81±78,54
M300	55,13±4,33	42,66±5,14	59,62±18,21	75,88±55,96

FA: tratamento $p=0,8246$; momento $p<0,0001$; interação $p<0,0001$; AST: tratamento $p=0,9565$; momento $p=0,0004$; interação $p<0,0001$; Os valores de AST foram transformados em logaritmo para análise estatística. Fonte: elaborado pela autora.

Para a creatinaquinase (CK) (Tabela 7), não houve diferença estatística entre tratamentos ($p=0,2776$), porém houve diferença entre momentos ($p<0,0001$) e interação tratamento*momentos ($p<0,0001$). Todos os valores de ambos os grupos estavam dentro da normalidade de 35 - 280 U/L (RADOSTITS et al., 2007). A CK é fortemente utilizada como um marcador de lesão muscular, e o momento em que houve maior atividade dessa enzima foi em M0 para ambos os grupos, porém ainda permaneceu dentro dos limites de referência. No GC, esse fato pode ser decorrente da atividade muscular envolvida no trabalho de parto, e para o GE, pode ter ocorrido em função de injúria muscular decorrente das aplicações intramusculares de hormônios referentes ao protocolo (MINKA e AYO, 2010) Quando se avalia a CK juntamente com a AST, é possível concluir que os animais não apresentaram lesões musculares permanentes decorrentes da aplicação do protocolo de indução.

Para os valores GGT foi observada diferença entre momentos da lactação (dia $p<0,0001$), e interação momento*tratamento ($p<0,0001$). Não foram detectadas diferenças entre os tratamentos. Os valores médios observados de GGT (Tabela 7) se mantiveram acima dos valores de referência descritos por (Kaneko et al. (2008), que estão entre 6,1 e 17,4 UI/L. (Paiano et al. (2018) citam valores de 15,11±2,97 (UI/L) para vacas de lactação natural, e

22,11±2,98 para vacas de indução aos 21 dias de lactação. Já Stojević et al. (2005) citam valores de 19,00 ± 4,23 para vacas em início de lactação e 19,56 ± 4,09 UI/L para vacas no período seco. Até o presente momento, não se encontrou uma explicação que justifique essas alterações, em que todos os animais de ambos os grupos apresentaram valores elevados de GGT, tendo sido encontrados poucos valores dentro dos limites de referência, visto que o restante da função hepática mostrou-se normal.

Tabela 7. Médias e desvio-padrão para os valores de creatina quinase (CK) e gama glutamiltransferase (GGT) ao longo dos momentos para os GC e GE; Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento, asteriscos indicam diferença entre momentos.

Momento	CK*		GGT*	
	GC	GE	GC	GE
M-21	88,29±114,15 ^b	110,00±54,35 ^a	23,86±15,86	39,86±24,85
M0	122,00±109,41	149,36±85,25	24,83±15,90	37,43±26,05
M15	55,86±80,62	95,07±111,13	36,36±33,97	44,07±33,41
M30	92,93±91,29	68,78±1,89	46,21±49,51	41,21±28,64
M45	110,00±85,77 ^a	90,71±112,04 ^b	29,71±12,71	44,83±32,13
M60	106,07±131,99 ^a	37,50±33,08 ^b	31,93±17,49	48,57±26,95
M75	107,28±121,76	53,21±33,61	34,29±23,24	37,50±26,33
M90	69,00±63,39 ^b	115,07±96,83 ^a	32,71±9,94	36,50±13,92
M120	60,92±38,85	65,93±39,88	50,38±13,75	44,43±38,68
M150	59,14±36,49	71,93±50,52	42,43±25,48	52,79±39,16
M180	80,07±67,35	85,14±52,69	49,21±35,19	49,43±13,85
M210	62,57±53,53	66,00±50,83	49,43±19,96	37,64±17,42
M240	97,57±103,42	89,36±100,94	56,86±38,25	63,79±54,01
M270	74,79±44,97	89,38±83,52	52,43±17,43	43,46±18,72
M300	75,91±39,06	119,75±60,67	42,45±16,87	43,88±32,19

CK: tratamento p=0,2776; momento p<0,0001; interação p<0,0001; GGT: tratamento p=0,1112; momento p<0,0001; interação p=0,0153; *Os valores de CK E GGT foram transformados em logaritmo para análise estatística. Fonte: elaborado pela autora, 2020.

3.5.4 Ureia e creatinina

Na avaliação da função renal, houve diferença entre os tratamentos na dosagem de creatinina (p=0,0159), assim como diferença entre momentos (p<0,0001), interação momento*tratamento (p<0,0001). O grupo controle possuiu valores mais altos de creatinina em M0 (Tabela 8) (dia do parto – média de 1,77 mg/dL) que o grupo experimental, porém, sem ultrapassar os limites de referência segundo Kaneko et al. (2008), de 1,0 a 2,0 mg/dL. Em M180, M210, M240 e M270 os grupos diferiram, pois os valores das vacas de indução se encontravam abaixo do limite de referência. Em estudo conduzido por Doornenbal (1988), a creatinina esteve mais elevada nos animais lactantes do que em animais no período seco,

enquanto Kronfeld et al. (1982) observaram valores mais altos de creatinina em vacas holandesas durante o pico de lactação. Isso pode explicar os valores mais baixos de creatinina observados para o grupo experimental em relação ao controle no final da lactação, devido à diferença mais acentuada nos índices de produção de leite entre os grupos. A creatinina está relacionada ao catabolismo proteico, e esse tende a ser maior quando há um balanço energético negativo mais acentuado. Em vacas gestantes os valores de creatinina também tendem a ser mais altos que em vacas vazias (SILVA, 2009). Em estudo conduzido por Vicini et al. (1990), os mesmos observaram valores semelhantes aos encontrados nesse estudo para a creatinina de animais tratados com bST-R, estando os mesmos também discretamente abaixo dos valores de referência (0,84 mg/dL).

Para a ureia, foi detectada também diferença entre tratamentos ($p=0,0061$), momentos ($p=0,0253$) e interação momento*tratamento ($p<0,0001$). Os valores de ureia abaixo dos de referência podem estar relacionados ao maior aporte de aminoácidos para a glândula mamária, com menor disponibilidade para formação de ureia pelo fígado, inclusive em bovinos de leite que recebem aplicações constantes de bST-r (WEST et al., 1991).

Tabela 8. Médias e desvio-padrão dos valores de ureia e creatinina nos diferentes momentos avaliados para o grupo controle e grupo experimental. Letras diferentes indicam diferença entre grupos no momento.

Momento	Ureia*		Creatinina*	
	GC	GE	GC	GE
M-21	30,86±10,13 ^b	41,50±11,94 ^a	1,21±0,29	1,12±0,23
M0	42,83±28,84	38,57±25,66	1,77±1,13 ^a	1,19±0,48 ^b
M15	40,57±27,73	34,36±5,61	1,36±0,48	1,21±0,24
M30	35,36±26,12	34,71±10,63	1,42±1,08	1,05±0,24
M45	40,57±15,90	32,64±5,78	1,07±0,23	1,06±0,26
M60	41,86±15,22 ^a	30,93±4,58 ^b	1,10±0,27	1,00±0,22
M75	42,36±11,86 ^a	34,71±9,65 ^b	1,18±0,34	1,20±0,47
M90	44,21±14,41 ^a	34,93±10,95 ^b	1,23±0,33	1,07±0,40
M120	34,08±10,01	35,21±6,83	1,05±0,16	1,21±0,44
M150	32,57±10,01	30,00±6,48	0,96±0,21	0,96±0,21
M180	38,50±14,63 ^a	30,57±9,65 ^b	1,23±0,48 ^a	0,89±0,21 ^b
M210	42,14±15,15 ^a	29,07±5,34 ^b	1,11±0,29 ^a	0,84±0,23 ^b
M240	48,71±22,74 ^a	33,43±12,92 ^b	1,16±0,58 ^a	0,94±0,62 ^b
M270	37,36±12,09 ^a	27,54±9,85 ^b	1,06±0,25 ^a	0,89±0,43 ^b
M300	38,27±14,34	39,25±13,64	1,01±0,17	0,75±0,12

Ureia: tratamento $p=0,0061$; momento $p=0,0253$; interação $p<0,0001$; Creatinina: tratamento $p=0,0159$; momento $p<0,0001$; interação $p<0,0001$ *Os valores sofreram transformação logarítmica para análise estatística.

3.5.5 Cálcio, fósforo e magnésio

Os grupos não tiveram diferença quanto aos valores de cálcio ($p=0,253$). Porém, houve efeito de momentos (dia $p<0,0001$) e interação dia*tratamento ($p<0,0001$). Houve diferença em M120, quando o grupo indução apresentou concentrações mais elevadas de cálcio, e do momento M210 até o M300, o grupo experimental apresentou valores baixos de cálcio circulante. Os valores encontrados no presente estudo ficaram predominantemente abaixo dos valores de referência esperados entre 9,7 e 12,4 mmol/L (KANEKO et al., 2008).

Um fato bem conhecido que ocorre no parto ou no primeiro dia de lactação é a diminuição abrupta nos níveis de cálcio sérico, que está relacionada à grande mobilização de cálcio para a produção de colostro e/ou leite. Sabe-se também que animais mais velhos (3ª lactação para cima) podem ter concentrações mais baixas de cálcio, sendo que uma das razões para isso é a redução no número de receptores de 1,25-diidroxicolecalciferol no intestino, o que resulta em absorção reduzida do mineral (QUIROZ ROCHA et al., 2009). A grande maioria das vacas do projeto estavam entre a 3ª e 4ª lactação, o que pode explicar em parte os níveis de cálcio abaixo da referência para os animais durante praticamente toda a lactação.

Para os valores de fósforo foi observada diferença entre tratamentos ($p=0,0153$), entre dias ($p=0,0015$) e uma interação dia*tratamento ($p<0,0001$). Os teores de fósforo do grupo controle estavam elevados no momento do parto, enquanto os do grupo experimental sofreram uma diminuição. Em estudo conduzido por Fagliari et al., (1998), pode-se observar um decréscimo gradual nos níveis de fósforo entre o período pré-parto e pós-parto, sendo que os valores encontrados por ele foram significativamente menores 30 dias pós-parto em bovinos da raça holandesa. Os níveis de fósforo sanguíneo têm sido utilizados também para avaliação do metabolismo energético, juntamente com outros parâmetros como os ácidos graxos. O fósforo participa de inúmeras reações no organismo, e uma deficiência de substratos energéticos poderia elevar os níveis de fósforo na corrente sanguínea, pois o mesmo acabaria sendo menos utilizado em reações envolvendo metabolismo energético dentro das células (GONZÁLES et al., 2000).

Nos valores de magnésio não foi observada diferença estatística ($p=0,7418$) entre os grupos. Foi observada uma variação ao acaso dos teores dos mesmos dentro do mesmo animal nos diferentes momentos de colheita, mas os valores médios estavam dentro do valor de referência descrito por Reinhardt et al. (1988) que está entre 1,7 e 3,3 mg/dL. Essa mesma variação foi observada por Silva (2009), porém avaliando fêmeas bovinas da raça holandesa ao longo dos meses de gestação.

5.6 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

5.6.1 Hemograma

Os valores da contagem de eritrócitos foram significativamente diferentes entre os grupos apenas no momento do parto/início da lactação (Dia 0) ($p < 0,0001$), quando os animais controle apresentaram uma média de $6,70 \pm 0,69 \times 10^6/\mu\text{L}$ em relação ao grupo experimental de $5,83 \pm 0,41 \times 10^6/\mu\text{L}$. Nos demais momentos, as médias se apresentaram semelhantes. Em todos os momentos os valores se encontraram dentro dos valores de referência de 5,00 a $10,00 \times 10^6/\mu\text{L}$ (JAIN, 1993).

Igualmente, a concentração de hemoglobina e o VG foram menores para o grupo experimental no dia 0, apresentando médias de $9,17 \pm 1,11 \text{ g/dL}$ e $27 \pm 2\%$ respectivamente, enquanto o grupo controle apresentou médias de $11,18 \pm 0,85 \text{ g/dL}$ e $32 \pm 3\%$ respectivamente, sendo as diferenças consideradas significativas para ambos ($p < 0,0001$). Sabe-se que o estrógeno possui uma influência negativa na eritropoiese, podendo ser até mesmo tóxico para a medula óssea. Os animais do grupo experimental receberam diversas doses de benzoato de estradiol durante o período de indução, o que pode explicar os parâmetros reduzidos de eritrócitos, hemoglobina e VG no dia do início da lactação (WEISS e WARDROP, 2010).

Estudos demonstram que em animais no início da lactação, que apresentam uma produção de leite mais elevada, o VG tende a ser menor quando comparado com vacas no período seco ou em final de lactação. Quando se administra bST a uma vaca de lactação natural, espera-se que seu VG esteja mais baixo devido ao incremento na produção de leite como parte de um ajuste do organismo que acaba desviando proteínas das sínteses necessárias ao corpo para a síntese do leite, e com isso ocorre uma discreta redução na eritropoiese. Outros parâmetros relacionados aos eritrócitos também podem apresentar-se alterados em decorrência desse fato. Porém, na maior parte das vezes os dados ainda permanecem dentro do intervalo de referência considerado normal, e os animais não apresentam sinais clínicos decorrentes dessas mudanças (EPPARD et al., 1997). No presente estudo, os animais de indução artificial de lactação receberam o bST durante todo o período de lactação, porém, apesar de terem atingido bons índices, sua produção foi em torno de 78% do que os animais controle produziram, e acredita-se, por essa razão, que não tenha ocorrido diferença entre os valores de VG durante o período de lactação (EPPARD et al., 1997). Em todos os momentos avaliados os animais apresentaram valores de VG dentro dos valores de referência de 24 a 46% segundo Jain (1993).

Para a distribuição do diâmetro dos eritrócitos (RDW), o grupo experimental foi superior ao controle ($p < 0,0001$), porém, em todos os momentos ambos os grupos permaneceram dentro dos valores de referência para bovinos segundo Radostits et al. (2007), de 16,7 a 23,3%, e referência para vacas em lactação de 16 a 20%, segundo Weiss e Wardrop (2010). Outros fatores além de anemias regenerativas são capazes de provocar anisocitose, tais como tratamentos com glicocorticoides, tempo prolongado de armazenamento no EDTA da amostra e distúrbios medulares, e nesses casos o parâmetro não é um indicador específico de regeneração (WEISS e WARDROP, 2010). Nos animais do GE foram realizadas três aplicações de corticoide exógeno no início da lactação, o que poderia justificar uma diferença maior observada entre as médias no início da lactação entre os grupos (17,84% do GC para 20,63% do GE) e M30 (17,99% do GC para 20,28% do GE). Porém, como os animais não ultrapassaram os limites de referência em nenhum momento da lactação, pode ser que a diferença encontrada entre grupos não possua nenhuma relevância clínica.

No volume globular médio (VGM), os animais apresentaram diferenças apenas no M270 ($p < 0,0062$), estando as médias dentro dos padrões de referência (GC: $47,24 \pm 1,80$ fL e GE $43,46 \pm 3,55$ fL) segundo Jain (1993).

Os valores de CHGM também não apresentaram diferença entre grupos, apenas entre momentos ($p = 0,0033$), para o M90 e M120, porém sem significância clínica, pois todos os valores encontravam-se dentro dos valores de referência.

Os resultados encontrados na presente pesquisa divergem de estudos anteriores, como foi o caso de Eppard et al. (1997) que observaram que o volume globular médio estava diminuído nas vacas tratadas com bST, porém não foi possível correlacionar o efeito do bST sobre o RDW.

Observou-se diferença estatística para os valores de plaquetas entre grupos aos 300 dias de lactação ($p = 0,0109$), porém não é possível considerar esta diferença devido ao pequeno número de animais do GE que continuavam lactando nessa data ($n = 2$), sendo que durante todo o período seco e de lactação os grupos se comportaram de forma semelhante.

Nos valores de proteína plasmática total, o grupo controle apresentou valores menores que o grupo experimental nos momentos M-21 (21 dias antes do parto) e M0 (dia do parto/início de ordenha), sendo considerados diferentes ($p = 0,006$). Houve também diferença entre momentos ($p = 0,0003$). No M-21 ambos os grupos ainda apresentavam valores dentro dos limites de referência, porém no momento do parto, o grupo controle apresentou média de $6,72 \pm 0,36$ g/dL, estando essa abaixo dos limites de referência (7,0 a 8,2 segundo Jain, (1993)). Essa redução nos valores pode estar relacionada à diminuição nas globulinas, que

tiveram valores menores no dia do parto, porém ainda se encontravam nos limites de referência (média GC= 3,19 g/dL; referência 3,0 a 3,5 segundo Kaneko et al. (2008).

A vaca inicia a formação do colostro de aproximadamente quatro a seis semanas antes do parto, e caracteriza-se pela grande presença de imunoglobulinas, principalmente IgG, mas também existem em quantidade significativa IgA e IgM. A IgG é transferida para o colostro a partir do sangue materno por um processo ativo, seletivo e mediado por receptores para o epitélio mamário. As outras classes de imunoglobulinas são transferidas por meio de processos não seletivos, e suas concentrações no colostro são menores. No momento do parto (primeiro colostro) as concentrações de IgG estão muito mais altas no colostro que no soro materno (RADOSTITS et al., 2007). Acredita-se que pelo evento do parto e mobilização de imunoglobulinas, pode-se observar essa queda nos valores de PPT nos animais do grupo controle nos momentos M-21 e M0, em comparação as vacas de indução artificial de lactação.

Observou-se também uma média maior na PPT para o grupo experimental em M180 (180 dias de lactação), estando a média do grupo ligeiramente acima dos valores de referência (média GE = 8,36; limite 8,2 segundo Jain (1993). Uma possível privação de água de alguns animais, que acabaram sofrendo uma discreta desidratação, pode ser a causa dessa alteração, pois no momento anterior (M150) e posterior (M210) a PPT desses animais estava dentro dos limites de referência (KANEKO et al., 2008).

Para os valores de fibrinogênio não foi observada diferença estatística nem entre os grupos ($p=0,3145$) e nem entre os momentos avaliados ($p=0,9085$), além de permanecerem dentro do valor de referência para espécie (300 a 700 mg/dL) segundo Jain (1993), de modo que não há relevância clínica para este parâmetro.

5.6.2 Leucograma

Na mensuração dos segmentados, não houve diferença entre tratamentos ($p=0,9412$), apenas entre momentos de coleta ($p<0,0001$) e interação tratamento*momento ($p<0,0008$), onde observou-se em M0 (momento do início da lactação) uma média superior para o GE, de 12.763 ± 7.015 / μ L, enquanto para o GC a média foi de 5781 ± 1980 / μ L. Ambos os grupos apresentaram-se acima dos limites de referência nesse momento (600 a 4000 / μ L segundo Jain (1993)). Ambos os grupos passaram por momentos de estresse no M0, para o grupo controle, o momento do parto acarreta na liberação de corticóides endógenos, enquanto para o grupo experimental, foram aplicadas altas doses de corticóides exógenos, o que pode cursar com um quadro de neutrofilia nos animais (KLEIN, 2013; MAGALHÃES et al., 2017).

Para os valores de linfócitos totais, não houve diferença entre tratamentos $p=0,138$, momentos $p=0,1215$, nem interação entre momento e tratamento $p=0,845$. Porém os valores encontravam-se acima da referencia estabelecida por Jain (1993) que cita valores entre 2500 e 7500/ μL . Porém Birgel (2001) em estudo conduzido em São Paulo com bovinos da raça Jersey, não reagentes ao vírus da leucose enzoótica bovina, cita valores de linfócitos de 8.716 ± 3.028 células/ mm^3 , sugerindo que os valores no Brasil possam ser diferentes daqueles preconizados por Jain (1993).

Os bastonetes não apresentaram diferença entre grupos ($p=0,631$). Foram observadas apenas raras aparições de bastonetes no leucograma dos animais, estando os dentro da média preconizada por Jain (1993) de 0 - 300/ μL , apresentando Med=0,00; 25% = 0,00; 75% = 0,00 para ambos os grupos.

Os basófilos não apresentaram diferença entre grupos ($p=0,658$), sendo observados raras vezes, com seus valores dentro dos limites de referencia estabelecidos por Jain (1993) de 0 – 200/ μL , tendo como Med=0,00; 25% = 0,00; 75% = 0,00 em ambos os grupos. Para os valores de monócitos também não foi observada diferença entre grupos ($p=0,558$), apresentando para o GC Med=0; 25% 0,00; 75% 198,50; e para o GE Med=0; 25% 0,00; 75% 106,00.

Para os eosinófilos, observou-se diferença entre grupos ($p<0,0001$), sendo que para o grupo controle observou-se Med=773; 25% 400,75; 75% 1195,50; e para o grupo experimental Med=342,5; 25% 0,00; 75% 761,00. Porém, apesar de ter sido observada diferença, todos valores encontravam-se dentro dos limites de referência estabelecidos por Jain (1993).

Nos leucócitos totais, não foi observada diferença entre grupos ($p=0,1063$), apenas entre momentos ($p<0,0001$) e interação momento*tratamento (0,0417), acompanhando as alterações observadas nas células observadas individualmente.

5 CONCLUSÃO

Os protocolos de indução artificial de lactação são eficientes em induzir a lactação, porém com uma produção equivalente a 78% da produção em uma lactação natural.

Os animais submetidos ao protocolo de indução apresentaram algumas alterações em valores bioquímicos e hematológico, porém uma vez que a lactação se estabelece, os parâmetros tendem a se comportar de maneira semelhante aos animais de lactação natural. A indução artificial de lactação não possui influencia sobre o metabolismo oxidativo de vacas leiteiras.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUELO, A. et al. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: Revisiting antioxidant supplementation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1003–1016, 2015.

AULDIST, M. J.; HUBBLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 53, n. 1, p. 28–36, 1998.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G.; Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal – Funep. 583p. 2006.

BIRGEL JUNIOR, E. H., ANGELINO, J. L., BENESI, F. J., BIRGEL, E. H. Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* Vol.38 nº. 3 São Paulo, 2001.

BYATT, J. C. et al. The Effect of Recombinant Bovine Placental Lactogen on Induced Lactation in Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 3, p. 496–503, 1997. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75962-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75962-9)>.

CASTILLO, C. et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 80, n. 2, p. 133–139, 2006.

CELI, P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 33, n. 2, p. 233–240, 2011.

COLAKOGLU, H. E. et al. MDA and GSH-Px activity in transition dairy cows under seasonal variations and their relationship with reproductive performance. **Journal of Veterinary Research (Poland)**, v. 61, n. 4, p. 497–502, 2017.

CROOM, W. J. et al. Cellular Studies of Mammary Tissue from Cows Hormonally Induced into Lactation: Histology and Ultrastructure. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 7, p. 1232–1246, 1976. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84352-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84352-4)>.

DJOKOVIC, R. et al. Relationship among blood metabolites and lipid content in the liver in transitional dairy cows. **Biotechnology in Animal Husbandry** *Biotehnologija u stocarstvu*, v. 28, n. 4, p. 705–714, 2012.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, n. C, p. 421–431, 1990.

EMBRAPA. Anuário do leite 2018. Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro. **Revista embrapa gado de leite**, p. 116, 2018. Disponível em: <www.embrapa.br/gado-de-leite>.

ENRIGHT, W. J. et al. Effects of infusions of various doses of bovine growth hormone-releasing factor on blood hormones and metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Endocrinology**, v. 122, n. 3, p. 671–679, 1989.

EPPARD, P. J. et al. Effect of Exogenous Somatotropin on Hematological Variables of Lactating Cows and Their Offspring. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1582–1591, 1997. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76088-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76088-0)>.

FAGLIARI, J. J. et al. Constituintes sangüíneos de vacas das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinas (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah durante a gestação, no dia do parto e no puerpério. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 1998.

FALCONER, I. R. Aspects of the Biochemistry, Physiology and Endocrinology of Lactation. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 33, n. 1, p. 71–84, 1980.

FEIJÓ, J. O. et al. Parâmetros bioquímicos clínicos de vacas de alta e média produção de leite, criadas em sistema freestall. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 23, n. 3–4, p. 180–185, 2016.

FLEMING, J. R. et al. Induction of Lactation: Histological and Biochemical Development of Mammary Tissue and Milk Yields of Cows Injected with Estradiol-17 β and Progesterone for 21 Days. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 12, p. 3008–3021, 1986.

FREITAS, P. R. C. et al. Indução artificial de lactação em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 10, p. 2268–2272, 2010.

GANDRA, J. R.; RENNÓ, F. P.; SILVA, L. F. P.; FREITAS JÚNIOR, J. E.; MATURANA FILHO, M.; GANDRA, E.; D'ANGELO, R. S.; ARAÚJO, A. P. C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras submetidas à diferentes níveis de monensina sódica nas rações. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.1, p.115-128, jan/mar, 2009.

GERLOFF, B. J.; HERDT, T. H.; EMERY, R. S. Relationship of hepatic lipidoses to health and performance in dairy cattle. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 8, p. 845, 1986.

GIEHL ET AL., A. L. Boletim Agropecuário Censo 2017. **Ed. Epagri/Cepa, Florianópolis**, p. 59, 2018.

GOFF, J. P. Dry Cow Nutrition and Metabolic Disease in Parturient Cows. **Advances in Dairy Technology**, v. 11, n. 1999, p. 63–79, 1999.

GONZÁLES, F. H. D. et al. Variações sangüíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no rio grande do sul. **A Hora Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 59–62, 2000.

JAIN, N.C.; Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

JANERO, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 9, n. 6, p. 515–540, 1990.

KANEKO, J.; HARVEY, J. J.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Academic Press, Sand Diego, California. 928p. 2008.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J.; **Farmacologia básica e clínica**. 13^a ed. AMGH. Porto Alegre. 2017.

KETELAARS, J. J. M. H.; TOLKAMP, B. J. Oxygen Efficiency and the Control of Energy Flow in Animals and Humans. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 12, p. 3036–3051, 1996.

KLEIN, B. G. **Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology**. [s.l: s.n.]

KRONFELD, D. S. et al. Nutritional Status of Dairy Cows Indicated by Analysis of Blood I. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 1925–1933, 1982.

LAGO, E. P. et al. Parâmetros metabólicos em vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 1–2, p. 98–103, 2004.

LUZ, G. B. et al. Endocrine Profile and Reproductive Performance in Heifers Induced to Lactation. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. May, p. 1–6, 2019.

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. **Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 502–511, 2007.

MACRINA, A. L.; TOZER, P. R.; KENSINGER, R. S. Induced lactation in pubertal heifers: Efficacy, response to bovine somatotropin, and profitability. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1355–1364, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3811>>.

MAGALHÃES ET AL., L. Q. Influência da indução artificial de lactação na saúde das vacas. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 15, n. Supl 2, p. 521, 2017.

MAGLIARO, A. L. et al. Induced lactation in nonpregnant cows: Profitability and response to bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3290–3297, 2004. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73465-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73465-7)>.

MELLADO, M. et al. Milk production and reproductive performance of cows induced into lactation and treated with bovine somatotropin. **Animal Science**, v. 82, n. 4, p. 555–559, 2006.

MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological responses of food animals to road transportation stress. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 40, p. 6601–6613, 2010.

NARENDRAN, R. et al. Hormonal Induction of Lactation in the Bovine: Mammary Gland Histology and Milk Composition. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 11, p. 1334–1340, 1974.

NAZIFI, S.; AHMADI, M. R.; GHEISARI, H. R. Hematological changes of dairy cows in postpartum period and early pregnancy. **Comparative Clinical Pathology**, v. 17, n. 3, p. 157–163, 2008.

NOZAD, S. et al. Monthly evaluation of blood hematological, biochemical, mineral, and enzyme parameters during the lactation period in Holstein dairy cows. **Comparative Clinical Pathology**, v. 23, n. 2, p. 275–281, 2014.

NRC: Nutritional Research Council. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. National Academic Science, Washington, DC. 2001.

OLIVEIRA, M. L. de; FERREIRA, C. Y. M. R. INDUÇÃO DA LACTAÇÃO EM VACAS. **Almanaque de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 2, n. 1, p. 1–7, 2016.

PAIANO, R. B. et al. Biochemical profile in dairy cows with artificial induction of lactation. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 38, n. 12, p. 2289–2292, 2018.

PEDERNERA, M. et al. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture. **Veterinary Journal**, v. 186, n. 3, p. 352–357, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.09.003>>.

PILATTI, J. A.; VIEIRA, F. M. C. Environment, behavior and welfare aspects of dairy cows reared in compost bedded pack barns system. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 5, n. 3, p. 97–105, 2017.

QUIROZ ROCHA, G. F. et al. Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. **Canadian Veterinary Journal**, v. 50, n. 4, p. 383–388, 2009.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. p. 2065, 2007.

RAMGATTIE, R. et al. Effect of mammary stimulation on dairy cows and heifers exposed to a lactation induction protocol. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 04, n. 01, p. 1–12, 2014.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; *Farmacologia*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 914 p. 2004.

RANGEL, M. C. Bovinocultura de Leite. **Série cadernos de propostas para atuação em cadeias produtivas. FUNDAÇÃO BANCO DO BRASIL**, v. 1, p. 57, 2010.

REINHARDT, T. A.; HORST, R. L.; GOFF, J. P. Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 4, n. 2, p. 331–350, 1988. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)31052-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0720(15)31052-5)>.

RIBEIRO, A. C.; MCALLISTER, A. J.; DE QUEIROZ, S. A. Efeito das taxas de descarte sobre medidas econômicas de vacas leiteiras em Kentucky. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6 SUPPL. 1, p. 1737–1746, 2003.

SHIBRU, D. Review on: Effect of using Recombinant Bovine Somatotropin (rbST) hormone on dairy cattle production. **Global Journal of Science Frontier Research**, v. 16, n. 7, p. 19–30, 2016.

SILVA, L. A. F. et al. Causas De Descarte De Vacas Da Raça Holandesa Confinadas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 2, p. 383–389, 2008.

SILVA, P. R. L. Perfil sanguíneo de fêmeas bovinas em gestação e no periparto e avaliação da transferência de imunidade passiva aos descendentes [dissertação]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; 2009.

SILVA, R. D. Estresse oxidativo em bovinos confinados alimentados com feno de brachiaria e suplementados com antioxidantes. **Tese de Doutorado**, p. 83, 2014.

SMITH, L. K.; SCHANBACHER, F. L. Hormone Induced Lactation in the Bovine. I. Lactational Performance Following Injections of 17β -Estradiol and Progesterone. **Journal of Dairy Science**, v. 56, n. 6, p. 738–743, 1973. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(73\)85243-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(73)85243-9)>.

SORDILLO, L. M.; AITKEN, S. L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1–3, p. 104–109, 2009.

SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.; AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. **Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases**, v. 10, n. 1, p. 53–63, 2009.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 267–278, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.03.002>>.

STOJEVIĆ, Z. et al. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski Arhiv**, v. 75, n. 1, p. 67–73, 2005.

SOUZA, P. M. DE, & BIRGEL, E. H. Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo: influência de fatores de variabilidade etários e sexuais. Universidade de São Paulo, São Paulo. 1997.

VERNON, R. G. Lipid metabolism during lactation: A review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. **Journal of Dairy Research**, v. 72, n. 4, p. 460–469, 2005.

VICINI, J. L. et al. Effect of Acute Challenge with an Extreme Dose of Somatotropin in a Prolonged-Release Formulation on Milk Production and Health of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 8, p. 2093–2102, 1990. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78889-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78889-3)>.

WATHES, D. C.; CLEMPSON, A. M.; POLLOTT, G. E. Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 25, n. 1, p. 48–61, 2013.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. [s.l: s.n.]

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; SANDIFER, T. G. Effects of Bovine Somatotropin on Physiologic Responses of Lactating Holstein and Jersey Cows During Hot, Humid Weather. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 3, p. 840–851, 1991. Disponível em:

<[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78233-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78233-7)>.

WILDE, C. J.; HENDERSON, A. J.; KNIGHT, C. H. Metabolic adaptations in goat mammary tissue during pregnancy and lactation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 76, n. 1, p. 289–298, 1986.

WILTBANK, M. et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 17–29, 2006.

7 ANEXOS

Tabela 9. Médias e erro-padrão dos teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais; Escore de células somáticas + erro-padrão. Letras diferentes na linha indicam diferença entre grupos no momento. Asteriscos indicam momentos significativamente superiores em relação aos demais, porém sem diferença entre grupos.

Composição	Gordura %		Proteína %		Lactose %		Sólidos totais %		ECS	
Momento	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE
M15	3,53±0,19	3,58±0,19	3,40±0,08*	3,37±0,08*	4,42±0,08	4,64±0,08	12,26±0,25	12,67±0,26	4,84±0,77	4,11±0,79
M30	3,38±0,18	3,58±0,20	3,08±0,08	2,90±0,09	4,54±0,08	4,48±0,09	11,99±0,24	11,72±0,26	3,98±0,77	5,31±0,82
M45	3,46±0,19	3,40±0,18	2,91±0,09	2,96±0,08	4,52±0,08	4,54±0,08	11,76±0,25	12,02±0,25	4,23±0,78	4,07±0,77
M60	3,20±0,17	3,52±0,19	3,01±0,08	2,95±0,09	4,58±0,08	4,60±0,08	11,43±0,23	11,96±0,26	4,41±0,73	4,20±0,81
M75	3,36±0,19	3,28±0,17	3,02±0,09	2,90±0,08	4,50±0,09	4,44±0,07	11,64±0,26	11,54±0,23	4,16±0,81	4,63±0,74
M90	3,56±0,18	3,24±0,19	3,02±0,09	3,01±0,09	4,57±0,08	4,41±0,08	11,86±0,24	11,59±0,25	3,59±0,79	5,39±0,79
M120	3,49±0,18	3,27±0,21	3,24±0,09	3,05±0,09	4,34±0,08	4,39±0,09	12,07±0,24	11,58±0,27	3,32±0,77	4,34±0,85
M150	3,45±0,18	3,31±0,18	3,26±0,08	3,11±0,08	4,40±0,08	4,29±0,08	11,92±0,24	11,51±0,24	3,56±0,77	4,83±0,77
M180	3,54±0,21	3,29±0,17	3,25±0,09	3,10±0,08	4,64±0,10 ^a	4,34±0,08 ^b	12,14±0,28	11,69±0,23	3,78±0,91	3,91±0,74
M210	3,59±0,21	3,36±0,17	3,33±0,10	3,30±0,08	4,59±0,10 ^a	4,11±0,08 ^b	12,50±0,28 ^a	11,73±0,23 ^b	2,31±0,91	5,27±0,74
M240	3,45±0,22	3,48±0,21	3,35±0,09*	3,41±0,09*	4,59±0,10 ^a	4,32±0,09 ^b	12,19±0,28	11,88±0,27	2,54±0,91	4,92±0,90
M270	3,83±0,21	3,35±0,21	3,49±0,09*	3,56±0,09*	4,49±0,09 ^a	4,08±0,09 ^b	12,80±0,28 ^a	11,93±0,28 ^b	3,15±0,86	5,90±0,86
M300	3,67±0,26	3,37±0,29	3,48±0,12*	3,58±0,13*	4,33±0,11	4,12±0,12	12,49±0,34 ^b	15,59±0,72 ^a	2,31±1,04	4,51±1,12

Gordura: tratamento p=0,3992; momento p=0,9865; interação p=0,7263; Proteína: tratamento p=0,4034; momento p<0,0001; interação p=0,7081; Lactose: tratamento p=0,0582; momento p<0,0001; interação p<0,0001; Sólidos totais: tratamento p=0,8897; momento p<0,0001; interação p=0,0003; ECS: tratamento p=0,0975; momento p=0,9049; interação p=0,0839; Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Tabela 10. Médias e erro-padrão dos valores de eritrócitos, hemoglobina, volume globular (VG), volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM). Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento.

Eritrócitos			Hemoglobina		VG		VGM		CHGM	
Momento	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE
M-21	6,81±0,29	7,26±0,29	10,97±0,42	11,09±0,41	32,38±1,20	33,13±1,18	46,40±1,41	45,67±1,32	33,86±0,58	33,40±0,58
M0	6,83±0,31 ^a	5,83±0,29 ^b	11,09±0,46 ^a	9,16±0,39 ^b	31,79±1,29 ^a	27,02±1,21 ^b	47,25±1,47	44,95±1,32	33,66±0,71	34,87±0,54
M15	6,04±0,29	5,52±0,29	9,72±0,40	8,87±0,40	28,10±1,20	25,99±1,18	46,51±1,35	46,33±1,37	34,61±0,54	33,72±0,54
M30	5,72±0,29	5,74±0,29	9,26±0,40	9,63±0,39	26,67±1,20	27,99±1,18	46,64±1,41	47,31±1,44	34,82±0,59	34,42±0,54
M45	6,10±0,30	5,91±0,29	9,61±0,41	9,74±0,39	28,10±1,20	27,70±1,18	46,43±1,42	47,92±1,37	33,91±0,59	34,47±0,58
M60	5,71±0,29	6,44±0,29	9,80±0,40	10,16±0,39	28,53±1,20	30,27±1,18	49,17±1,42	47,22±1,32	34,44±0,59	33,48±0,54
M75	5,95±0,29	6,19±0,29	9,36±0,40	10,14±0,39	27,53±1,20	29,56±1,18	45,99±1,41	48,06±1,32	33,76±0,59	34,29±0,54
M90	6,37±0,29	6,70±0,29	10,37±0,40	10,09±0,39	29,67±1,20	31,41±1,18	47,16±1,35	47,23±1,32	34,86±0,54 ^a	32,14±0,54 ^b
M120	6,65±0,29	6,71±0,29	10,33±0,40	10,41±0,39	31,24±1,20	29,56±1,18	46,85±1,35	44,86±1,38	32,34±0,58 ^b	34,14±0,58 ^a
M150	6,75±0,29	6,62±0,29	10,42±0,40	9,70±0,39	30,81±1,20	29,56±1,18	45,69±1,35	44,69±1,32	33,74±0,54	32,83±0,54
M180	6,71±0,29	6,97±0,29	9,99±0,40	9,81±0,39	30,10±1,20	29,27±1,18	44,28±1,35	42,51±1,38	33,24±0,54	33,56±0,54
M210	6,38±0,29	6,36±0,29	10,27±0,40	9,33±0,39	30,67±1,20	28,41±1,18	45,17±1,49	44,83±1,32	32,05±0,64	32,83±0,54
M240	6,74±0,29	6,73±0,29	10,21±0,40	9,58±0,44	31,38±1,20	29,99±1,18	46,69±1,35	44,21±1,46	32,54±0,54	32,78±0,63
M270	7,10±0,29	7,60±0,29	11,10±0,40	10,43±0,39	33,53±1,20	32,27±1,18	47,06±1,35 ^a	41,50±1,46 ^b	33,09±0,54	32,33±0,54
M300	6,85±0,33	7,23±0,46	10,75±0,45	11,18±0,63	31,07±1,35	34,42±1,90	45,27±1,50	47,56±2,05	34,28±0,64	32,44±0,99

Eritrócitos: tratamento p=0,789; momento p<0,0001; interação p=0,004; Hemoglobina: tratamento p=0,4871; momento p<0,0001; interação p=0,0025; VG: tratamento p=0,7606; momento p<0,0001; interação p=0,003; VGM: tratamento p=0,5704; momento p=0,0062; interação p=0,0247; CHGM: tratamento p=0,488; momento p=0,0033; interação p=0,0044; Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Tabela 11. Médias e erro-padrão dos valores de proteína plasmática total (PPT), fibrinogênio e diferença no diâmetro dos eritrócitos (RDW). Médias e desvio-padrão dos valores de plaquetas obtidos nos diferentes momentos. Letras diferentes indicam diferença entre momentos; Asteriscos indicam diferença no momento avaliado.

Momento	PPT		Fibrinogênio		RDW %		Plaquetas*	
	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE
M-21	7,52±0,21 ^b	8,11±0,20 ^a	530,49±86,53	605,4±85,98	18,63±0,41	18,75±0,34	367±124	407±116
M0	6,49±0,23 ^b	8,33±0,20 ^a	625,25±101,62	665,17±92,19	17,85±0,43	18,92±0,34	432±62	433±71
M15	7,29±0,21	7,78±0,20	644,77±86,53	548,26±85,98	17,84±0,33 ^b	20,63±0,36 ^a	443±124	468±111
M30	7,91±0,21	8,27±0,20	616,2±86,53	548,26±85,98	17,99±0,33 ^b	20,28±0,35 ^a	435±133	446±168
M45	8,02±0,21	8,34±0,21	601,92±86,53	633,97±85,98	18,14±0,33 ^b	20,16±0,32 ^a	463±166	402±119
M60	8,21±0,21	8,27±0,20	459,06±86,53	605,4±85,98	17,33±0,33 ^b	19,87±0,32 ^a	363±83	409±124
M75	8,18±0,21	8,37±0,20	630,49±86,53	585,79±91,98	17,93±0,33	17,75±0,42	378±123	338±106
M90	8,42±0,21	8,32±0,22	644,77±86,53	545,91±92,46	17,38±0,33 ^b	19,30±0,32 ^a	411±71	374±107
M120	8,18±0,22	8,24±0,22	504,42±93,65	591,12±85,98	17,53±0,33 ^b	18,60±0,32 ^a	315±69	386±81
M150	8,04±0,21	8,45±0,20	516,2±86,53	668,8±113,05	17,72±0,34	18,65±0,34	332±61	353±115
M180	7,62±0,21	8,31±0,20	473,35±86,53	576,83±85,98	18,16±0,35	19,07±0,32	297±66	344±118
M210	7,99±0,21	8,24±0,20	387,63±86,53	613,5±92,64	18,03±0,33 ^b	19,29±0,32 ^a	341±38	381±127
M240	7,92±0,21	8,25±0,20	401,92±86,53	557,84±92,90	18,83±0,33	19,01±0,36	362±135	344±69
M270	8,14±0,21	8,39±0,22	573,35±86,53	604,22±101,48	18,79±0,33	18,35±0,32	390±222	404±159
M300	7,99±0,24	8,58±0,36	612,49±114,75	575,17±160,43	18,29±0,37	19,2074±0,54	298±99 ^b	741±315 ^a

PPT: tratamento p=0,006; momento p=0,0003; interação p=0,0016; Fibrinogênio: tratamento p=0,3145; momento p=0,9085; interação p=0,8487; RDW: tratamento p<0,0001; momento p=0,0002; interação p<0,0001; Plaquetas: tratamento p=0,2215; momento p=0,0109; interação p=0,0437*. Os valores de plaquetas sofreram transformação logarítmica para análise estatística; Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Tabela 12. Médias e erro-padrão para os valores de leucócitos totais, segmentados e linfócitos. Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento.

Momento	Leucócitos totais		Segmentados		Linfócitos	
	GC	GE	GC	GE	GC	GE
M-21	19733±2920	13986±2053	4603,82±769	4219,28±887	10464±1882	8180±1745
M0	22725±2920	23120±2110	5980,41±885 ^b	9061,16±968 ^a	12478±1918	8771±1781
M15	21495±2920 ^a	14060±2048 ^b	5883,11±769	6372,79±884	11922±1882	7051±1745
M30	18961±3093 ^a	11757±2046 ^b	5848,54±769	4067,2±823	10134±1969	6896±1745
M45	19506±3108	14304±2003	5783,82±769	6270,86±823	10454±1985	7477±1745
M60	17473±3099	13352±2003	4657,53±820	5540,86±823	9927±1976	6881±1745
M75	18090±2986	15497±3178	5183,03±820	8961,53±884	9500±1918	7742±2416
M90	17865±2920	14028±2003	4804,68±769	4209,03±823	10172±1882	8227±1745
M120	18217±2920	13468±2003	3976,54±769	3902,86±823	10633±1882	8197±1745
M150	17031±2920	14249±2003	3760,82±769	5678,81±888	10050±1882	6249±1745
M180	18889±2920 ^a	11482±2003 ^b	4550,11±769	3880,41±888	10251±1882	5242±1745
M210	18409±2920	14241±2003	4419,68±769	4763,2±823	9682±1983	7902±1745
M240	20783±2920	14961±2052	4924,4±769	4684,77±884	11863±1882	9389±1789
M270	19599±2920 ^a	11152±2053 ^b	5600,4±769 ^a	2881,79±884 ^b	10592±1882	6655±1792
M300	19729±2920	14332±2656	5212,41±885	1397,78±1814	10586±1934	6168±2703

Leucócitos totais: tratamento p=0,1063; momento p<0,0001; interação p=0,0417; Neutrófilos: tratamento p=0,9412; momento p<0,0001; interação p=0,0008; Linfócitos: tratamento p=0,138; momento p=0,1215; interação p=0,845; Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Tabela 13. Médias e erro-padrão para os valores de cálcio; médias e desvio-padrão para os valores de fósforo e magnésio. Letras diferentes indicam diferenças entre grupos no momento avaliado.

Momento	Cálcio		Fósforo*		Magnésio*	
	GC	GE	GC	GE	GC	GE
M-21	7,36±0,37	6,80±0,37	3,96±1,11 ^b	5,94±1,20 ^a	1,19±0,35	0,85±0,35
M0	6,22±0,41	7,20±0,40	5,38±1,56 ^a	3,96±1,52 ^b	2,38±1,59	2,23±1,10
M15	7,014±0,44	7,13±0,41	6,15±3,31	4,39±0,68	2,72±1,59	0,94±0,42
M30	6,72±0,48	6,45±0,37	7,51±4,62	4,87±1,33	2,69±1,62	1,64±0,89
M45	7,01±0,44	5,98±0,37	6,76±3,72	4,69±1,74	2,17±1,33	1,19±0,72
M60	6,53±0,38	6,07±0,37	5,53±3,22	3,85±1,11	1,68±1,07	1,27±1,34
M75	6,20±0,37	6,38±0,41	5,08±1,2	5,33±1,88	1,34±0,54	1,77±1,64
M90	6,44±0,38	6,69±0,37	4,96±1,36	4,80±1,79	1,35±0,38	1,79±1,79
M120	6,03±0,38 ^b	7,29±0,37 ^a	4,85±1,53	4,24±1,43	1,82±0,99	2,54±1,41
M150	5,85±0,37	5,50±0,37	4,65±1,55	4,58±1,49	1,68±0,89	1,75±1,25
M180	6,29±0,37	5,31±0,37	7,69±11,38	3,85±0,95	1,76±0,84	1,92±1,13
M210	5,99±0,37 ^a	4,54±0,37 ^b	4,54±1,72	3,51±0,98	1,53±0,32	2,43±1,27
M240	6,45±0,37 ^a	5,38±0,39 ^b	4,86±2,18	3,34±1,01	1,60±0,61	2,51±1,28
M270	5,97±0,38 ^a	3,59±0,41 ^b	4,69±1,20	3,47±1,07	1,70±0,79	2,52±0,98
M300	5,95±0,42 ^b	7,47±0,52 ^a	4,60±1,51	4,76±2,49	1,97±1,01	1,79±0,87

Cálcio: tratamento p=0,253; momento p<0,0001; interação p<0,0001; Fósforo: tratamento p=0,0153; momento p=0,0015; interação p<0,0001; *Os valores sofreram transformação logarítmica para análise estatística; Os valores de magnésio foram analisados pelo teste não-paramétrico de Friedman apenas para grupos. Fonte: Elaborado pela autora, 2020.