

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOMATOTROPINA  
BOVINA COMO AGENTE GALACTOPOIÉTICO  
EM VACAS LEITEIRAS CONFINADAS NO BRASIL

ANDRÉ DE FARIA PEDROSO  
Engenheiro Agrônomo

Orientador:

Prof. Dr. Wilson R. S. Mattos

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Ciência Animal e Pastagens.

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
Dezembro - 1991

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da  
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Pedroso, André de Faria

P372a Avaliação da eficácia da somatotropina bovina como  
agente galactopoiético em vacas leiteiras confinadas  
no Brasil. Piracicaba, 1991.

76p. ilus.

Diss.(Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Hormônio em vaca leiteira 2. Leite - Produção -  
Brasil 3. Vaca leiteira - Confinamento - Brasil 4. Va  
ca leiteira - Efeito de hormônio I. Escola Superior de  
Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 636.214

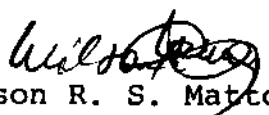
**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOMATOTROPINA  
BOVINA COMO AGENTE GALACTOPOIÉTICO  
EM VACAS LEITEIRAS CONFINADAS NO BRASIL**

ANDRÉ DE FARIA PEDROSO

Aprovada em: 16/12/1991

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos	ESALQ/USP
Prof. Dr. Max Lázaro Vieira Bose	ESALQ/USP
Prof. Dr. Paulo Figueiredo Vieira	UNESP/JABOTICABAL

  
Prof. Dr. Wilson R. S. Mattos  
Orientador

À minha esposa, Maria Antônia,  
pelo amor e companheirismo,

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Asdrúbal e Rosalia, pelo amor e esforço dedicados aos filhos.

Aos primos Vidal, Glória e filhos, pela grande amizade e incentivo constante.

Aos tios Celso e Ophélia pelo carinho e colaboração em minha formação.

Ao Prof. Dr. Wilson R. S. Mattos, pela confiança, orientação e amizade.

À Monsanto do Brasil, pela possibilidade de participar deste experimento e pela análise dos dados.

Aos proprietários da Fazenda Pinhalzinho e seus funcionários pela coloboração na execução do trabalho.

Às bibliotecárias, secretárias, laboratoristas e demais funcionários da ESALQ, pelo auxílio e boa vontade demonstrados.

Ao Dr. Moacir G. Saueressig pelo apoio e amizade.

À minha irmã Céres, pela datilografia impecável do texto.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	vi
SUMMARY.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1. Histórico.....	5
2.2. Uso da somatotropina bovina (BST) como agente galactopoiético em bovinos.....	11
2.2.1. BST derivado de pituitária (pBST)...	11
2.2.2. BST recombinante (rBST).....	13
2.2.3. rBST em formulações de liberação lenta (rBST-FLL).....	16
2.3. Efeito do BST sobre os constituintes do leite.....	20
2.4. Efeito do BST sobre a saúde e reprodução dos bovinos.....	25
2.5. Leite de vacas tratadas com BST x saúde do consumidor.....	29
2.6. Alguns aspectos da fisiologia do BST.....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1. Caracterização da fazenda.....	35
3.2. Condução do experimento.....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5. CONCLUSÕES.....	66
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Efeito do BST sobre a produção de leite...	52
Figura 2 - Efeito do BST sobre a produção de leite corrigido para 3,5% de gordura.....	53
Figura 3 - Efeito do BST sobre a porcentagem de gor- dura do leite.....	56

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA SOMATOTROPINA  
BOVINA COMO AGENTE GALACTOPOIÉTICO  
EM VACAS LEITEIRAS CONFINADAS NO BRASIL**

Autor: ANDRÉ DE FARIA PEDROSO

Orientador: Prof. Dr. WILSON R.S. MATTOS

RESUMO

A eficácia da somatotropina bovina produzida através da técnica do DNA recombinante (rBST) (260 mg em formulação de liberação lenta a cada 14 dias, durante 84 dias), em promover aumento na produção de leite de vacas (efeito galactopoiético) foi avaliada em um rebanho particular, na Fazenda Pinhalzinho, município de Araras, estado de São Paulo, onde se adota o sistema de produção em confinamento. O estudo teve duração de 112 dias e foram utilizados ao todo 59 animais (54% primíparas), entre 50 e 180 dias em lactação, e produções variando entre 14 e 30 Kg leite/dia, aproximadamente. Foram distribuídos aleatoriamente 29 animais para o tratamento com placebo (controle) e 30 animais para o tratamento com rBST, mantendo-se dentro de cada tratamento a proporção entre primíparas e múltíparas igual à existente no rebanho. Os animais do estudo permaneceram junto com os demais animais do rebanho, durante



todo o período experimental, sob as mesmas condições de manejo e alimentação. Silagem de milho ("ad libitum") e concentrado (de acordo com a produção de leite e número de parições) foram fornecidos em duas refeições diárias, além de 1,0 a 2,0 kg de feno, por cabeça, durante a noite, sendo os animais divididos e arraçoados em lotes e instalados em dois galpões tipo "free-stall". O controle do leite produzido pelos animais do experimento foi realizado diariamente nas duas ordenhas. Os animais tratados com BST produziram significativamente ( $P < 0,01$ ) mais leite e leite corrigido para 3,5% de gordura, quando comparados ao controle (21,9 x 20,1 e 22,1 x 19,8 kg/vaca/dia, respectivamente), correspondendo a um aumento percentual de 8,9% na produção de leite e de 11,6% na produção de leite corrigido, devido ao tratamento com BST. Este tratamento resultou ainda em um aumento médio significativo ( $P < 0,05$ ) no teor de gordura do leite (3,5 x 3,4%). Não foram detectados problemas relacionados com a saúde e reprodução dos animais durante o estudo.

**EVALUATION OF GALOCTOPOIETIC EFFICACY  
OF BOVIN SOMATOTROPIN IN  
CONFINED DAIRY COWS IN BRAZIL**

Author: ANDRÉ DE FARIA PEDROSO

Adviser: Prof. Dr. WILSON R.S. MATTOS

**SUMMARY**

The efficacy of recombinant bovine somatotropin (rBST) (260 mg in a sustained release vehicle every 14 days for 84 days) in promoting milk production in cows (galactopoietic response) was evaluated in a commercial herd in Pinhalzinho Farm - Araras county, São Paulo State - where the confinement production system is adopted. The 112 day experiment, involved 59 cows (54% primiparous) between 50 and 180 days post-partum, and milk production ranging from 14 to 30 kg/cow/day. Twenty nine (29) animals were randomly assigned to placebo treatment (control) and thirty (30) to rBST treatment; the same proportion between primiparous and multiparous cows as in the herd was maintained in each treatment. The experimental animals remained in their normal production groups, under the same feeding and general management conditions, allocated in two

free-stall bars. Corn silage ("ad libidum") and concentrate (according to group average milk production and parity number) were offered twice a day, and hay (1 to 2 kg/cow) in early evening. Milk control was done twice daily. BST treated animals produced more milk and 3.5%-fat-corrected milk ( $P < 0.01$ ) than control (21.9 x 20.1 and 22.1 x 19.8 kg/cow/day respectively), corresponding to an increase of 8.9% in milk and 11.6% more fat-corrected mil, due to BST treatment. The BST treatment also resulted in higher ( $P < 0.05$ ) milk fat percentage (3.5 x 3.4%). No health or reproduction problems were detected during the experiment in the rBST injected group.

## 1. INTRODUÇÃO

A possibilidade de se obter aumentos significativos na produção de leite de vacas, através do uso de hormônios naturais, foi demonstrada há mais de 50 anos (AZIMOV e KROUZE, 1937). Trabalhos iniciais utilizando extratos da glândula pituitária obtiveram resultados animadores (FOLLEY e YOUNG, 1939), tanto que, por ocasião da segunda guerra mundial, pensou-se na utilização daqueles extratos como forma de aumentar a produção de leite na Inglaterra, tendo sido considerado inviável o processo apenas pela insuficiência na quantidade de glândulas disponíveis nos abatedouros, de forma que somente um número reduzido de animais poderia ser tratado, resultando em aumentos insignificantes na produção de leite do país como um todo (FOLLEY e YOUNG, 1945).

Com o desenvolver das pesquisas, ficou determinado que o responsável pela capacidade de aumentar a produção de leite (efeito galactopoiético) apresentada pelos extratos de pituitária era o hormônio de crescimento ou somatotropina (COTES et alii, 1949<sub>a</sub>).

O emprego da somatotropina bovina (BST -

Bovine Somatotropin) como agente galactopoiético foi demonstrado como sendo tecnologia eficiente (MACHLIN, 1973) e segura (FRONK et alii, 1983), sendo os aumentos na produção proporcionais às doses utilizadas (EPPARD et alii, 1985).

Com o desenvolvimento da biotecnologia, foi aberto o caminho para um possível uso generalizado a campo do BST, pois, através da técnica de DNA recombinante, tornou-se possível a produção do hormônio em grandes quantidades, sendo que em um dos primeiros trabalhos onde se avaliou o efeito de diversas dosagens do hormônio, produzido desta maneira, obteve-se aumento de até 40% na produção de leite de vacas tratadas por um longo período (BAUMAN et alii, 1985). Pesquisa mais recente, avaliando o efeito do BST em formulação de liberação lenta, aplicado a cada 14 dias, sobre um grande número de animais (890 vacas) distribuídas por diversos rebanhos comerciais, mostrou aumentos na ordem de 17% na produção de leite, como média geral para os animais tratados (THOMAS et alii, 1991).

Ao se analisar a situação da pecuária leiteira brasileira, observa-se que ela apresenta sérios problemas como: pequena disponibilidade de leite para a população; baixa capacidade produtiva dos rebanhos; estacionalidade da produção e baixa rentabilidade da exploração. Desta forma, técnicas básicas utilizadas em países de pecuária evoluída ainda necessitam ser aqui generalizadas como: alimentação adequada durante o ano todo; utilização de

vacas ou raças especializadas para produção de leite; aproveitamento de terras agricultáveis como base produtiva das propriedades leiteiras, ou seja, reformulação nos conceitos gerais aplicados no setor. (FARIA, 1988)

A comprovada capacidade do BST em promover aumentos significativos na produção de leite, sem problemas para o consumidor (PEEL e BAUMAN, 1987), despertam hoje grande interesse, tendo em vista a crescente demanda pelos produtos lácteos, tanto que nos Estados Unidos da América do Norte já foi realizado estudo, visando estimar o possível impacto da utilização do hormônio sobre a indústria leiteira daquele país, onde se concluiu que através de melhoramentos genéticos, na alimentação e manejo, a média nacional deverá elevar-se de 5680 kg/vaca/ano para 7425 kg/vaca/ano no ano 2000, no entanto, com o uso do BST poderá chegar a 9281 kg/vaca/ano no início do século XXI, satisfazendo ao enorme consumo daquela época com redução de 30% no número atual de animais e diminuição de cerca de 3,8 milhões de ha hoje utilizados para produção de alimentos para o rebanho leiteiro (MIX, 1987).

Tendo em vista que no Brasil também já existe interesse pela utilização do BST e levando-se em conta que em algumas bacias leiteiras as condições básicas de produção já são atendidas, o presente trabalho tem como objetivo a avaliação do efeito galactopoiético do BST produzido pela técnica do DNA recombinante (rBST) em veículo

sólido de liberação lenta, em condições de uma fazenda produtora de leite B (onde se utiliza o sistema de produção com animais sob confinamento), na região sudeste do Brasil.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Histórico

A pituitária, ou hipófise, é uma glândula de secreção interna, intimamente ligada à base do cérebro, onde se encontra protegida em uma concavidade do osso esfenoide, a "sella turcica". Embora seja um órgão relativamente pequeno, nenhuma parte do corpo deixa de sofrer sua influência. A glândula hipófise está relacionada com uma multiplicidade de processos vitais e pelo menos nove hormônios polipeptídicos, ou protéicos, já foram dela isolados. A ligação da hipófise à porção do cérebro chamada hipotálamo, feita através de conexões vasculares e nervosas, permite à glândula ajustar sua ação hormonal em resposta a estímulos, tanto internos como externos ao organismo, sendo considerada como um elo essencial do sistema neuroendócrino (TURNER, 1976).

De acordo com diferenças na origem embrionária e composição histológica, divide-se a hipófise em: adenohipófise e neurohipófise. O lóbulo anterior da adenohipófise (**Pars Distalis e Pars Tuberalis**) é o responsável pela secreção da somatotropina (STH ou hormônio de crescimento), além de cinco outros hormônios, a saber: adrenocorticotropi-



na (ACTH), tireotropina (TSH), hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e prolactina (luteotropina) (FRIEDEN e LIPNER, 1975).

No início deste século, dois pesquisadores forneceram as bases para o estudo e compreensão das propriedades dos hormônios da hipófise, quando conseguiram obter, pela primeira vez, um extrato ativo do lóbulo anterior, com o qual foi possível promover o crescimento em ratos hipofisectomizados, bem como a interrupção do cio em alguns animais (EVANS e LONG, 1921). Este primeiro extrato consistia apenas em uma suspensão aquosa de glândulas trituradas com areia e submetidas a centrifugação, no entanto o líquido resultante da centrifugação, apesar das precauções de assepsia, não era estéril e apresentava curto período de conservação (EVANS e LONG, 1921).

PUTNAN et alii (1928) apresentaram o primeiro método de preparação de um extrato estéril da pituitária anterior (lóbulo anterior) efetivo quanto ao fator promotor de crescimento, através da adição de um conservante químico (benzoato de sódio) e de filtração especial (filtro de "Sieck"). Visavam os autores, desta forma, possibilitar a estocagem dos extratos, enquanto eram testados quanto à sua eficiência, no que obtiveram sucesso, relatando a obtenção de aceleração do crescimento em ratos e cachorros e restabelecimento do crescimento dos mesmos, quando hipofisectomizados (PUTNAN et alii, 1928).

O primeiro trabalho onde se obteve a indução da lactação, através da injeção de extratos aquosos da pituitária anterior, foi realizado por STRICKER e GRUETER<sup>1</sup>, citados por CORNER (1930), que utilizaram coelhas gestantes ou pseudo-gestantes e após ser realizada gonadectomia. Em trabalhos subsequentes, CORNER (1930) induziu a lactação em coelhas adultas, injetando extratos de pituitária de carneiro, sem a necessidade de prenhez anterior ou ação prévia de hormônio luteinizante, e NELSON e PFIFFNER (1931) determinaram que, para animais imaturos, de ambos os sexos, e aqueles que tiveram os ovários removidos, era necessário o fornecimento de extratos do corpo lúteo e hormônio folicular, juntamente com o extrato de pituitária, para que a lactação ocorresse.

O efeito da injeção de extratos da pituitária integral, sobre a produção de leite, em animais com lactação já estabelecida, foi demonstrado no trabalho pioneiro de ASDELL (1932), quando, através de extratos alcalinos de pituitárias integrais de ovino, conseguiu evitar, ainda que por pouco tempo, o declínio normal na produção de leite, em caprinos em estágio avançado de lactação, apesar do extrato utilizado ter sido considerado bastante tóxico.

Em 1933, diversas frações dos extratos da

1. STRICKER, P. & GRUETER, F. 1928. Compt. Rend. Soc. de Biol., XCIX, 1978. 1929. Presse Médicale, XXXVII, 1268.

glândula pituitária, com propriedades hormonais específicas, já eram disponíveis, tais como as frações estimulantes das gônadas e as promotoras do crescimento (COLLIP et alii, 1933), sendo encontradas inclusive em formulações comerciais. Foi então testada a capacidade das mesmas em iniciar e promover a lactação (RIDDLE et alii, 1933). Nesse mesmo ano, foi demonstrado, no entanto, através de extenso trabalho de pesquisa, que o fator responsável pelo início da lactação (em cobaias e ratos) não era o hormônio estimulante das gônadas nem o hormônio de crescimento, e sim um terceiro hormônio, para o qual foi proposto o nome de prolactina, o qual, tendo sido testado inicialmente em pombos, foi capaz de estimular a glândula do papo e a produção do "leite de pombo" (RIDDLE et alii, 1933).

O aumento significativo na produção de leite de vacas, utilizando-se extratos da glândula pituitária, foi relatado pela primeira vez por AZIMOV e KROUZE (1937), que utilizando extratos de pituitária anterior (obtidos pelo mesmo processo empregado para a produção de hormônio de crescimento com pequenas modificações), obtiveram aumento médio de 6,85%, na produção de leite de um lote de 138 vacas, após uma única injeção de extrato, para um período de 15 dias após a aplicação. O extrato utilizado pelos pesquisadores continha o equivalente a 6 g de tecido fresco de glândula sendo que o efeito positivo sobre a produção de leite teve início após 24 horas da injeção, tendo sido obti-

do aumento máximo de 29% no segundo dia, não têm sido observados efeitos prejudiciais sobre a saúde dos animais, nem alteração na qualidade do leite (AZIMOV E KROUSE, 1937). Ressaltaram estes autores que preparações ricas em prolactina, por eles também testadas, foram incapazes de produzir aumentos na produção de leite de vacas.

Com o desenvolver de novos experimentos, ficou caracterizada a incapacidade da prolactina em promover aumentos persistentes na produção de leite de vacas, ao mesmo tempo que era evidenciado o efeito estimulante da lactação, de forma significativa, por extratos totais da pituitária anterior (FOLLEY e YOUNG, 1939).

Foi então proposto que o termo "lactogênicas" fosse utilizado para definir as substâncias capazes de promover o início da lactação, e que o termo "galactopoiéticas" fosse usado para definir aquelas com poder de estimular lactações já estabelecidas (BERGMAN e TURNER, 1940; FOLLEY e YOUNG, 1940).

Com o início da segunda guerra mundial, pensou-se na utilização dos extratos de glândula pituitária, como recurso para aumentar a produção de leite na Inglaterra, o que levou pesquisadores daquele país a realizarem uma série de testes, visando a determinação das condições precisas nas quais fosse possível obter resultados satisfatórios. Determinaram inicialmente os pesquisadores que: 1º) resultados semelhantes podiam ser obtidos com extratos alcalinos do

lóbulo anterior, extratos alcalinos do lóbulo anterior dessecados com acetona ou extratos alcalinos da pituitária integral; 2ª) efeitos máximos ocorriam com aplicações feitas a cada dois dias, na dose correspondente a 2,5 g de tecido fresco. Uma avaliação final foi realizada, injetando extrato alcalino do lóbulo anterior, em 19 vacas, por um período de 3 semanas, obtendo aumento médio de 20% sobre a produção esperada sem o tratamento, tendo sido a técnica considerada economicamente viável (FOLLEY e YOUNG, 1945).

Em 1945, o hormônio de crescimento foi isolado e caracterizado (LI et alii, 1945), e, alguns anos depois, COTES et alii (1949<sub>a</sub>) concluíram que o hormônio de crescimento, que apresentara efeito diabetogênico, era o responsável pela ação galactopoiética dos extratos de pituitária, tendo em vista que extratos do lóbulo anterior, promotores do crescimento, tinham efeito diabetogênico (EVANS, 1932) e que extratos com efeito galactopoiético também se mostraram diabetogênicos (FOLLEY e YOUNG, 1938).

COTES et alii (1949<sub>b</sub>) examinaram o efeito galactopoiético do hormônio de crescimento em bovinos, com ou sem a ação conjunta de prolactina e adrenocorticotropina e em comparação ao efeito de extrato bruto de pituitária anterior, evidenciando que o efeito galactopoiético de cada extrato testado era proporcional ao seu conteúdo em hormônio de crescimento.

A partir de então, o efeito galactopoiético

e a fisiologia do hormônio de crescimento de bovinos (BST) tem sido minuciosamente estudados.

## 2.2. Uso da somatotropina bovina (BST) como agente galactopoiético em bovinos

### 2.2.1. BST derivado de pituitária (pBST)

Durante a primeira fase das pesquisas com extratos brutos de pituitária, como nos trabalhos de AZIMOV e KROUZE (1937) e FOLLEY e YOUNG (1945), não se conhecia o teor de hormônio de crescimento contido nos mesmos, no entanto foram aqueles trabalhos o ponto de partida para experimentos mais aprimorados do futuro.

Durante a década de 50, já se produzia industrialmente hormônios de crescimento bovino (BST), porém com baixo grau de pureza, apresentando contaminação principalmente por prolactina e TSH. Foram realizados nessa época alguns experimentos utilizando dosagens diárias de 50 a 100 mg de BST, resultando em aumentos na produção de leite da ordem de 40 a 50% (CHUNG et alii, 1953; BRUMB e HANCOCK, 1955; SHAW et alii, 1955). Os resultados obtidos, embora animadores, eram de significado duvidoso pois além da presença de hormônios contaminantes nas soluções empregadas, os períodos de tratamento foram geralmente muito curtos (1 a 6 dias).

Em 1973, já era possível a obtenção do BST

com elevado grau de pureza e, nesse ano, utilizando hormônio purificado, MACHLIN (1973) obteve aumento médio de 30% para 9 vacas adultas, tratadas com 33 mg de BST, diariamente, durante 10 dias.

Outros experimentos de curta duração (10 dias de tratamento) foram realizados neste período, utilizando BST purificado, visando identificar a melhor dosagem e época de aplicação. PEEL et alii (1983) utilizando a dose diária de 39,6 mg do hormônio em quatro vacas holandesas de alta produção (28 kg leite/dia), obtiveram aumento médio de 15% na produção de leite para o tratamento iniciado 12 semanas após o parto e de 30% para 35 semanas após o parto. RICHARD et alii (1985) também obtiveram diferentes níveis de resposta para diferentes épocas de aplicação de 50,0mg BST/dia, para 8 vacas holandesas de alta produção (36 kg leite/dia no início da lactação), ou seja, 6% de aumento para tratamento iniciado aos 20 dias pós-parto e 12% para 60 dias pós-parto.

EPPARD et alii (1985), utilizando 6 vacas holandesas com 192 dias em lactação em média, e produção esperada de 9900 kg na lactação, testaram doses diárias de 3,8; 7,7; 19,2; 38,5 e 76,9 mg de BST purificado, obtendo aumentos na produção de leite, de 7,9; 7,1; 18,0; 28,5 e 32,0% respectivamente para as 5 doses, caracterizando uma correlação positiva entre tamanho da dose e o nível de resposta na produção, porém com respostas marginais decrescen-

tes, confirmando resultados anteriores de FOLLEY e YOUNG (1945) e HUTTON (1957).

Visando determinar pela primeira vez o efeito do tratamento prolongado com BST, PEEL et alii (1985) promoveram o tratamento com 50 mg/dia de BST, durante 22 semanas, em 5 pares de vacas gêmeas idênticas, entre 9 e 30 dias de lactação, obtendo aumento médio de 17% na produção de leite.

#### 2.2.2. BST recombinante (rBST)

O caminho para o estudo da ação prolongada do BST sobre um grande número de animais, e conseqüentemente a avaliação do seu potencial para uso comercial, foi aberto com o surgimento da somatotropina bovina produzida através da técnica de DNA - recombinante (rBST). Nesta técnica o gen responsável pela produção da somatotropina de bovino é inserido em uma estirpe da bactéria E.coli, a qual, ao se desenvolver em meio de cultura controlado, produz o hormônio estrutural e bioquimicamente equivalente ao BST derivado da glândula pituitária (pBST), em quantidades consideráveis e elevado grau de pureza (TESKE, 1987).

A primeira avaliação do rBST, como agente galactopoiético, em comparação ao pBST, foi publicada por BAUMAN et alii (1982), que obtiveram aumentos de 12,9 e



10,3% na produção de leite, para doses diárias de 25 mg de rBST e pBST respectivamente. Os animais utilizados no experimento foram 12 vacas holandesas, multíparas (2ª a 5ª lactação), entre 72 e 112 dias pós-parto, com média de 32 kg de leite por dia, tratadas durante 6 dias. Não tendo ocorrido, segundo os autores, efeitos adversos sobre a saúde dos animais.

BAUMAN et alii (1985) realizaram o primeiro experimento onde se utilizou o rBST durante um longo período (188 dias) em um número relativamente grande de animais (30 vacas). No seu experimento foram utilizadas vacas multíparas de alta produção (20 a 37 kg leite/dia), com período de lactação médio de 84 dias no início do experimento. Os tratamentos utilizados foram 0 (controle) 13,5 27,0 e 40,5 mg de rBST e 27,0 mg de pBST por dia, resultando em aumento na produção de leite corrigido para 3,5% de gordura de 23,0; 36,2 e 41,2%, respectivamente para as 3 doses de rBST, e de 16,5% para o pBST. Os autores ressaltaram que os animais tratados com as duas maiores doses de rBST, permaneceram mais de 100 dias com produções acima do pico da lactação normal (ocorrido no pré-tratamento), onde a produção média foi de 35,9 kg/dia. Quanto à diferença nas respostas para os dois tipos de BST, não encontraram os pesquisadores nenhuma explicação biológica para o fato, já que ambos apresentaram a mesma biopotência, quando testados sobre o ganho de peso de ratos hipofisectomizados.

Diferença significativa nas respostas para rBST e pBST foi também obtida por HUTCHISON et alii (1986) em experimento bastante semelhante ao de BAUMAN et alii (1985), tendo sido o aumento da produção de leite corrigido de 26,9 e 7,69% para doses diárias de 27,0 mg de rBST e pBST, respectivamente.

Com a possibilidade de se obter grandes quantidades do hormônio, diversos trabalhos testaram a correlação entre dose do rBST e aumento na produção de leite, para longos períodos de tratamento (4ª até 42ª semana pós-parto). Considerando-se aqueles onde foi usado um número médio de animais (30 a 40 vacas) de alta produção (24 a 28 kg leite/dia), obteve-se para as doses de 12,5; 25,0 e 50,0 mg rBST/dia, aumentos médios de 16 (10 a 23); 22 (18 a 30) e 23 (15 a 37)% respectivamente (SODERHOLM et alii, 1986; BAIRD et alii, 1986; CHALUPA et alii, 1986; BURTON et alii, 1990). Por sua vez, CHALUPA et alii (1987), utilizando um número bem maior de animais (136 vacas), obtiveram aumentos médios de 12; 16 e 19% respectivamente para as três doses mencionadas, sendo que as respostas para a primeira e segunda e para segunda e terceira doses foram estatisticamente iguais entre si.

ERDMAN et alii (1990) também avaliaram o efeito de doses crescentes de rBST (10,3; 20,6 e 30,9 mg/dia) durante longo período, utilizando 40 vacas holandesas (12 primíparas e 28 multíparas) com produções mínimas de 25,0 kg

para primíparas e 31,8 kg para as multíparas e período de lactação entre 98 a 105 dias. Para o tratamento hormonal até o término da lactação, obtiveram aumentos crescentes lineares na produção de leite corrigido, com o aumento nas doses de rBST (7,4; 17,5 e 19,6% respectivamente).

### 2.2.3. rBST em formulações de liberação lenta (rBST-FLL)

Visando maior facilidade de aplicação e viabilização do uso comercial do BST, iniciou-se nos últimos anos a pesquisa sobre formulações de liberação lenta para o rBST, tendo em vista que respostas semelhantes foram obtidas para injeções diárias de 20 mg de BST e injeções a cada 3 dias de 60 mg de BST (MACHILIN, 1973) e em trabalhos onde se avaliou o efeito de diversas formas de aplicação do hormônio conseguiram-se aumentos iguais na produção de leite, para infusões contínuas sub-cutâneas (simulando implantes de liberação lenta) e injeções únicas diárias de mesmo volume de pBST, ficando estabelecido que o principal determinante do nível de resposta, ou aumento na produção de leite devido ao uso do BST exógeno, é a média diária de elevação nos níveis do hormônio no sangue, e não o padrão de elevação, já que infusões contínuas produziram uma elevação relativamente constante nos níveis sanguíneos do BST e injeções únicas

produziram um pico de elevação seguida de uma queda contínua aos níveis basais do hormônio no sangue (FRONK et alii, 1983; McCUTCHEON e BAUMAN, 1986).

McGUFFEY e colaboradores (1987<sub>a</sub>) testaram a performance de vacas tratadas diariamente com 25 mg de rBST (durante 14 dias) e a cada 28 dias com 960 mg de rBST-FLL (durante 84 dias), obtendo aumentos de 3,4 e 4,1 kg de leite por dia, respectivamente para os dois tratamentos em relação ao controle. Em um segundo teste, McGUFFEY et alii (1987<sub>b</sub>) compararam frequências de aplicação de 14; 21 e 28 dias para doses de 320; 640 e 960 mg, não obtendo significância na interação entre frequências e doses. Assim, os autores apresentaram o efeito médio de cada tratamento, ficando caracterizado um aumento médio na produção de leite de 21; 18 e 17%, respectivamente para as três frequências de aplicação, tendo sido a melhor resposta para 960 mg a cada 14 dias (27%).

Em 1989 foram publicados resultados de trabalhos envolvendo diversas dosagens de rBST-FLL e alguns onde se testaram formulações comerciais, sem a indicação do volume de hormônio empregado.

Alguns trabalhos foram realizados utilizando vacas de alta produção (26 a 28 kg leite/dia), entre 98 e 105 dias pós-parto, e dosagens de 140, 350 e 700 mg de rBST-FLL, a cada 14 dias, durante 210 dias. FIRKINS et alii (1989), trabalhando com 50 vacas, relataram aumentos médios

para leite corrigido, para animais tratados, de 9; 8 e 14% respectivamente para as 3 doses mencionadas. ROCK e PATTERSON (1989) utilizando 149 vacas (113 multíparas e 36 primíparas) obtiveram aumentos médios de 6; 8 e 12% respectivamente para as 3 doses, sendo que nos dois trabalhos as respostas para a primeira e segunda e para a segunda e terceira doses foram estatisticamente iguais entre si. JENNY e et alii (1989), por sua vez, em experimento com 36 vacas tratadas durante 182 dias, obtiveram aumentos de 5 e 14% respectivamente para as duas menores doses (140 e 350 mg/14 dias).

FRANSON et alii (1989) testaram o efeito do rBST-FLL em um grande número de animais (255 vacas holandesas - 146 primíparas) com período de lactação de 60 ( $\pm$  3) dias pós-parto. Utilizando doses de 250 500 e 750 mg BST a cada 14 dias, durante toda a lactação, obtiveram aumentos significativos na produção de leite corrigido de 12; 15 e 25%, respectivamente para as três doses utilizadas, não tendo sido relatada diferença estatística entre as respostas aos tratamentos.

No Brasil, MATTOS et alii (1989) realizaram um experimento, envolvendo 60 vacas (24 primíparas e 36 multíparas), entre 60 e 180 dias em lactação, injetadas a cada 14 dias, durante 12 semanas, com 500 mg rBST-FLL em veículo oleoso, obtendo aumento médio significativo de 14% na produção de leite corrigido, sobre a produção média dos animais

controle, (16,8 kg/vaca/dia).

Alguns trabalhos relataram os resultados obtidos com a utilização de uma formulação comercial do rBTS-FLL, denominada SOMETRIBOVE (MONSANTO), onde foram utilizadas vacas com produções em torno de 25 kg leite/dia, em vários estágios de lactação, tratadas por 84 dias, resultando em aumentos na produção de leite corrigido, na ordem de 20% (THOMAS et alii, 1989; ARAMBEL et alii, 1989; GALTON e SAMUELS, 1989).

Em 1991, THOMAS et alii relataram resultados de pesquisa onde se avaliou o efeito do rBST-FLL em 890 vacas distribuídas por 15 rebanhos comerciais de 6 estados norte-americanos, com médias de produção destes rebanhos variando entre 7156 e 9916 kg/vaca/ano. Neste experimento os animais foram aleatoriamente distribuídos dentro de 3 estágios de lactação (57 a 100, 101 a 140 e 141 a 189 dias pós-parto) e número de partições (primíparas e multíparas) para controle ou tratamento com 500 mg de rBST-FLL (formulação líquida de liberação lenta - SOMETRIBOVE - MONSANTO AGRICULTURAL CO.) injetados a cada 14 dias durante 12 semanas. As vacas tratadas com rBST produziram mais leite que as do controle em todos os rebanhos, sendo o aumento médio de 17,6% (11,3 a 24,1%) ou 4,9 kg leite; o aumento médio para leite corrigido foi de 5,3 kg/vaca/dia; o aumento médio na produção de leite foi maior para as vacas multíparas de que para as primíparas (5,5 x 4,2 kg leite/dia ou 6,0 x 4,7 kg

leite corrigido/dia). Quanto ao estágio de lactação, o aumento na produção de leite para os animais tratados foi maior para aqueles que se encontravam entre 101 a 140 dias pós-parto, e menor para aqueles entre 57 e 100 dias pós-parto, confirmando resultados obtidos por ARAMBEL et alii (1989) e THOMAS et alii (1989).

Revisando-se a literatura, pode-se observar que, apenas em dois experimentos, não foram obtidos acréscimos significativos na produção de leite de vacas tratadas com rBST-FLL. Nesses experimentos, utilizando cerca de 40 vacas, entre 98 e 112 dias em lactação, injeções a cada 14 dias, por mais de 180 dias, não foram obtidas respostas para dosagens de 56 mg de rBST (JENNY et alii, 1989) e 175 mg rBST (BOER e KENNELLY, 1989).

O efeito do rBST foi também avaliado em condições de clima quente e "stress" térmico ( $34,6^{\circ}\text{C}$  a  $37,0^{\circ}\text{C}$ ), onde respostas positivas também foram obtidas (WEST et alii, 1989), porém de menor magnitude do que aquelas para condições sem "stress", em níveis até 16% mais baixos para leite corrigido (MBOE et alii, 1989), observando-se nestes casos, efeito negativo do calor sobre o consumo e aumento na taxa respiratória e temperatura retal dos animais tratados.

### 2.3. Efeito do BST sobre os constituintes do leite.

Em alguns experimentos onde se empregou o BST por curto espaço de tempo, foram detectadas mudanças na constituição do leite. FOLLEY e YOUNG (1938) detectaram aumento variável e pequeno no teor de gordura e queda passageira no teor da fração nitrogenada do leite das vacas tratadas com injeção única de extrato de pituitária. SHAW et alii (1955) testaram o efeito do hormônio sob condições de restrição alimentar, tendo obtido elevação da produção de leite aos níveis normais com injeção de 100 mg do BST, concomitantemente a um aumento no teor de gordura de 4,5 para 6,5%.

HUTTON et alii (1957), utilizando 3 pares de vacas gêmeas idênticas, entre 9 e 14 semanas em lactação e injeções únicas nas dosagens de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 mg de BST, obtiveram aumentos significativos na produção de leite e queda significativa, porém pequena, no teor de sólidos não gordurosos, para todas as doses empregadas (0,14% a menos para 200 mg BST).

PEEL et alii (1981) utilizando 10 vacas holandesas, com 74 ( $\pm$  3) dias em lactação, e injeções diárias de 44 mg de BST, durante 11 dias, obtiveram aumento significativo de 14% no teor de gordura do leite dos animais tratados.

PEEL et alii (1983), trabalhando com 4 vacas holandesas (delineamento quadrado latino), na 2ª lactação,



testaram o efeito da aplicação de 39,6 mg de pBST, diariamente durante 10 dias, quando os animais se encontravam com 12 e, posteriormente, 35 semanas após o parto, detectando queda significativa no teor de proteína e aumento significativo no teor de lactose, durante o tratamento no segundo estágio da lactação.

RICHARD et alii (1985) utilizando 8 vacas holandesas e injeções diárias de 50 mg de BST, por períodos de 10 dias iniciados aos 20 e 60 dias pós-parto, obtiveram aumento significativo de 20% para o teor de gordura do leite para o 1º período de tratamento, em comparação ao que seria esperado sem o tratamento, calculado através de curvas de regressão.

EPPARD et alii (1985) utilizando 6 vacas holandesas, com 192 dias em lactação, e testando várias doses de pBST purificado - 3,8; 7,7; 19,2; 38,5; 76,9 mg/dia- obtiveram, somente para as duas maiores doses, aumentos significativos no teor de gordura do leite de 5,4 e 9,7%, e queda significativa no teor de proteína de 4,7 e 4,1%, respectivamente para as duas dosagens, sendo que o período de tratamento foi de 10 dias.

Os resultados apresentados nestes trabalhos, ou seja, aumentos nos teores de gordura e lactose e queda no teor de proteína do leite de vacas tratadas com BST, são explicáveis, pois em todos eles não houve aumento no consumo (devido ao curto período de tratamento), para suporte do au-

mento na produção de leite, de forma que os animais entraram em déficit nutricional e passaram a utilizar reservas corporais para síntese do leite extra, o que é sempre caracterizado pelas modificações observadas, devido à propriedade do BST em modificar, nestas condições, o metabolismo dos lipídeos (diminuindo o acúmulo de gordura e aumentando a taxa de oxidação de ácidos graxos livres, preservando assim reservas limitadas de outros nutrientes), e dos carboidratos (reduzindo a taxa de oxidação da glicose; possivelmente mobilizando reservas de glicogênio; alterando a taxa de gliconeogênese a partir do propionato e glicerol - garantindo o suprimento de glicose para síntese da lactose), levando a uma produção desproporcional na gordura e lactose em relação ao leite como um todo. Por outro lado, vacas em balanço nutricional negativo, aparentemente, são incapazes de prover suficiente quantidade de aminoácidos, deslocados de reservas corporais, para síntese de quantidades adequadas de proteínas para o leite (PEEL e BAUMAN, 1987).

Dentre os trabalhos onde se estudou o efeito da ação prolongada do BST sobre um grande número de animais, apenas dois detectaram mudanças significativas na constituição do leite dos animais sob tratamento: ROCK e PATTERSON (1989) testando 3 dosagens de rBST-FLL em 149 vacas holandesas, entre 98 e 105 dias pós-parto, obtiveram aumentos significativos de 5,6% no teor de gordura e de 1,87% no teor de proteína do leite, para a dosagem de 350 mg do BST, aplicada

a cada 14 dias, durante todo o término da lactação. THOMAS e et alii (1991) em seu trabalho envolvendo 890 vacas, entre 57 e 189 dias em lactação, distribuídas por 15 rebanhos, injetadas a cada 14 dias, durante 12 semanas, com rBST-FLL comercial (formulação líquida de liberação lenta - SOMETRIBOVE - contendo 500 mg de rBST), obtiveram um aumento médio significativo no teor de gordura de 2,2%, e queda de 2,2% no teor de proteína, para os animais tratados, sendo que as diferenças nos teores destes componentes ocorreram apenas nas sete primeiras semanas de tratamento, tendo sido ressaltado que os efeitos observados devem ter sido devidos a déficits energéticos e do nitrogênio ocorridos inicialmente. É interessante citar que neste experimento, após o término do tratamento, o teor de gordura foi menor e o teor de proteína maior para os animais recém tratados com BST, em relação ao controle, não tendo sido encontrada explicação para o fato.

Dois experimentos de curta duração testaram a eficácia do BST, como agente galactopoiético, em condições de "stress" térmico, onde foram obtidos aumentos significativos no teor de gordura do leite dos animais sob tratamento. MOHAMMED e JOHNSON (1985) injetaram diariamente 16,6 mg BST, durante 5 dias em 6 vacas holandesas, com 90 a 120 dias em lactação, mantidas a uma temperatura de 28,9°C e 55% de umidade relativa do ar, observando um aumento de 5,3% no teor de gordura do leite. MBOE et alii (1986) injetaram 25 mg de BST, diariamente, durante 28 dias, em 13 vacas holan-

desas, entre 81 a 110 dias em lactação, sendo o "stress" neste caso caracterizado pela ausência de sombra para os animais, e o aumento no teor de gordura no leite foi de 10,4% para os animais tratados.

Nos trabalhos revisados, onde se avaliou o efeito do rBST por duas lactações consecutivas, não foram observadas mudanças nos teores dos diferentes constituintes do leite, para os animais tratados durante uma segunda lactação, seja para doses diárias variando entre 10,3 e 33 mg de BST ou aplicações a cada 28 dias de 640 mg de SOMETRIBOVE, tendo sido usados animais com diferentes estágios de lactação, número de partições e nível de produção (McBRIDE et alii, 1989; MUNNEKE et alii, 1989; GREEN et alii, 1989; McBRIDE et alii, 1990; ANNEXTAD et alii, 1990).

#### 2.4. Efeito do BST sobre a saúde e reprodução dos bovinos

Em nenhum dos trabalhos de pesquisa onde se testou a aplicação da somatotropina bovina exógena, seja ela de origem animal (pBST) ou produzida através da técnica de DNA - recombinante (rBST), foram detectados efeitos prejudiciais sobre a saúde dos animais ou do úbere (determinada, neste caso, através da contagem de células somáticas no leite ou incidência de mastite). No entanto, em cinco experi-

mentos, constatou-se diferença significativa quanto aos fatores ligados à reprodução e à condição corporal dos animais tratados com BST.

CLEALE et alii (1989) utilizando 467 vacas com período de lactação entre 98 e 105 dias, distribuídas por 4 rebanhos, tratadas diariamente com duas dosagens de rBST (20,6 ou 41,2 mg/dia) ou placebo (controle), durante toda a lactação, determinaram um aumento no período de serviço para as vacas que não estavam prenhes por ocasião do início do experimento (179 x 203 x 151 dias respectivamente), porém não houve efeito adverso sobre a taxa de concepção.

No trabalho de THOMAS et alii (1989) comentado anteriormente, onde se testou uma formulação comercial de rBST-FLL, com aplicações a cada 14 dias, e utilizando 266 vacas, entre 57 e 188 dias em lactação, os autores obtiveram menor taxa de prenhez para as vacas submetidas ao tratamento hormonal (32%) comparada à dos animais controle (48%).

GALTON e SAMUELS (1989) submeteram 96 vacas holandesas com produções entre 29 e 33 kg/dia, com 57 a 189 dias em lactação, ao tratamento com rBST-FLL comercial ou placebo, a cada 14 dias, durante 84 dias, e detectaram perda na condição corporal dos animais do tratamento BST, o que também foi observado por PHIPPS (1989), que utilizou 90 vacas holandesas, com 60(+ 3) dias em lactação, e injeções com rBST-FLL a cada 14 dias, até o término da lactação. Além da perda de

condição corporal, PHIPPS (1989) também detectou aumento no número de serviços por concepção que foi de 2,48 para as tratadas com BST e 2,02 para as que receberam placebo.

WEST et alii (1989), em condições de clima quente e úmido (temperatura máxima média = 34,6°C, temperatura mínima média = 22,2°C, umidade relativa do ar máxima média = 100%, umidade relativa mínima média = 59,8%), também observaram perda de condição corporal para o tratamento com BST, em experimento envolvendo 31 vacas (com mais de 100 dias de lactação), sendo a dosagem utilizada de 20 mg rBST/dia durante 80 dias.

Os resultados aqui apresentados podem também ser explicados sob o ponto de vista do "status" nutricional ou balanço energético em que se encontravam os animais por ocasião da coleta dos dados, tendo em vista que os trabalhos de THOMAS et alii (1989), GALTON e SAMUELS (1989) e WEST et alii (1989) foram de curta duração, não existiu tempo para que o consumo se ajustasse ao aumento na produção de leite, o que deve ocorrer entre 10 a 15 semanas após o início do tratamento com BST (SAMUELS et alii, 1989); da mesma forma, no trabalho de CLEALE et alii (1989), embora o tratamento tenha sido longo, quando se analisou o período de serviço, levou-se em conta o período inicial do experimento (primeiros 100 dias), já que o maior período de serviço observado foi de 203 dias e as vacas já se encontravam em média com 101 dias em lactação. No caso da existência de déficit nu-

tricional, ocorrerá a perda de reservas corporais (e peso corporal) devido às já comentadas propriedades do BST em promover o direcionamento dessas reservas para a síntese do leite (PEEL e BAUMAN, 1987), podendo desta forma também afetar a fertilidade dos animais, em alguns poucos casos, já que foram apenas estes os trabalhos que detectaram o problema, em toda a literatura consultada.

Quanto aos resultados de PHIPPS (1989), também pode-se supor que os animais não tiveram oportunidade de satisfazer a maior demanda por nutrientes, para suporte da maior produção de leite, pois já foi demonstrado que em condições de bom manejo alimentar, apesar de ocorrer uma perda inicial na condição corporal, ou menores ganhos de peso, para os animais tratados, estes podem apresentar condições corporais semelhantes aos animais controle ao final da lactação (SAMUELS et alii, 1989; THOMAS et alii, 1991).

Alguns trabalhos avaliaram o efeito do rBST em duas lactações consecutivas, onde foram constatados aumentos de até 36% para leite corrigido devido ao tratamento hormonal no segundo ano de tratamento, sem que se tenha observado problemas relacionados à saúde dos animais, tendo sido detectado apenas pequeno aumento no período de serviço e aumento nos cuidados clínicos durante os primeiros ciclos estrais (BURTON et alii 1990; ANNEXTAD et alii, 1990; McBRIDE et alii, 1990).

## 2.5. Leite de vacas tratadas com BST x saúde do consumidor

Hormônios de crescimento, ou somatotropinas, são hormônios peptídicos, como a insulina, prolactina, hormônio luteinizante (L.H.) e o hormônio folículo estimulante (F.S.H.). Estes hormônios diferem dos hormônios esteróides, como o estrogênio, a progesterona e os glucocorticoides, em importantes aspectos (BALDWIN e MIDDLETON, 1987): os hormônios peptídicos são proteínas com pesos moleculares elevados, variando entre 4 e 22 kg/mole, enquanto que os hormônios esteróides são pequenas moléculas, variando entre 0,2 e 0,3 kg/mole, de forma que os hormônios peptídicos não são ativos quando administrados oralmente, pois sendo moléculas grandes, não podem ser absorvidos inteiros pelo trato digestivo, necessitando ser antes degradados nos seus aminoácidos componentes, para que a absorção ocorra, enquanto que os hormônios esteróides não devem existir nos produtos para consumo humano, pois são moléculas pequenas que podem ser absorvidas intactas; os hormônios peptídicos apresentam moléculas altamente complexas, variando muito entre as espécies, sendo que probabilidade de que o hormônio de uma espécie aja sobre outra é tanto menor quanto menor o grau de homogeneidade na sequência de aminoácidos componentes das moléculas do hormônio de cada espécie, como resultado disto, o BST pode ser ativo quando injetado em ovelhas e ratos (85%



de homogeneidade), mas não tem efeito sobre a espécie humana (68% de homogeneidade).

Deve-se observar ainda que o BST pode ser encontrado normalmente no leite das vacas, em níveis como 0,3 a 1,3 ng/ml, sendo que a utilização do BST exógeno nem sempre acarreta a presença de níveis detectáveis no leite dos animais tratados. No entanto, quando isto ocorre as elevações são insignificantes (como 0,7 ng/ml) (HART e BINES, 1985).

Considerando que o leite dos animais tratados com BST é seguro para o consumidor e que o tratamento não é prejudicial também aos animais, órgãos como a ADMINISTRAÇÃO DE ALIMENTOS E DROGAS (Food and Drug Administration - F.D.A.), dos Estados Unidos da América do Norte, autorizam a venda para consumo humano do leite de vacas tratadas experimentalmente com BST (TESKE<sup>1</sup>, 1987), o que também ocorre no Reino Unido e Canadá (ARMSTRONG, 1988).

## 2.6. Alguns aspectos da fisiologia do BST

O hormônio de crescimento e a produção de leite estão intimamente relacionados desde o desenvolvimento

1 RICHARD H. TESKE - diretor do Centro para medicina veterinária do F. D. A.

da glândula mamária, tendo sido demonstrado que, na ausência da glândula pituitária, o estrogênio e a progesterona não foram capazes de estimular o crescimento da glândula mamária, ou prevenir a regressão da glândula já desenvolvida de caprinos, sendo que, por outro lado, considerável crescimento lóbulo-alveolar foi obtido pela administração dos hormônios esteróides em combinação com prolactina, hormônio de crescimento e adrenocorticotropina, em animais ovário-hipofisectomizados (COWIE et alii, 1966).

No fenômeno da lactogênese, ou seja, a série de eventos no processo de diferenciação pelo qual as células da glândula mamária passam de um estado não secretor para um estado secretor, o papel do hormônio de crescimento aparenta ser também sinérgico com o da prolactina e adrenocorticotropina (TUCKER, 1981).

A secreção do hormônio de crescimento nos animais adultos é naturalmente pulsativa e dessincronizada, ocorrendo em picos de maior ou menor intensidade, durante um período de 24 horas, sendo que o padrão de secreção varia muito entre indivíduos, sugerindo que as diferenças sejam determinadas geneticamente (GLUCKMAN et alii, 1987).

Por ocasião do parto, o nível sanguíneo do hormônio de crescimento eleva-se bastante, sendo que INGALLS et alii (1973) determinaram em 34 novilhas prenhas, nível médio de 4,8 ng/ml aos 26 dias antes do parto, elevação para 10,0 ng/ml por ocasião do parto e retorno aos níveis basais

(4,8 ng/ml) nove dias após o parto.

Durante a lactação, a quantidade de hormônios de crescimento no soro sanguíneo diminui com o passar do tempo, sendo que KOPROWSK e TUCKER (1973) observaram nível médio de 5,8 ng/ml na 4ª semana de lactação e 3,2 ng/ml na 44ª semana, de 26 vacas estudadas, tendo sido os dados ajustados para estágio de prenhez e estação do ano.

É interessante observar que em vacas de alta produção (25 kg leite/dia) foram detectados níveis médios do hormônio de crescimento 3 vezes mais altos do que os de vacas de baixa produção (10 kg leite/dia), de 6,96 x 2,25 ng/ml respectivamente (HART et alii, 1978). No entanto não se sabe se as diferenças na secreção do hormônio são devidas ao mérito genético ou ao "status" energético decorrente do nível de produção dos animais estudados (NYTES et alii, 1990).

Quanto ao efeito da aplicação do hormônio de crescimento exógeno, já ficou determinado que: uma única injeção sub-cutânea provoca a elevação dos níveis sanguíneos do hormônio a um pico máximo, num período de 1 a 3 horas após a aplicação, e volta ao nível normal dentro de 24 horas (BOURNE et alii, 1977); injeções únicas e infusões contínuas sub-cutâneas (simulando implantes), de mesmo volume de hormônio de crescimento, apresentam o mesmo efeito sendo que FRONK et alii (1983), testando três formas de aplicação do BST, num volume diário constante de 39,6 mg para todos os

tamentos, obtiveram aumentos iguais na produção de leite, apesar de que, para a injeção única sub-cutânea, o nível máximo do hormônio no plasma sanguíneo foi de 48,3 ng/ml e para a infusão sub-cutânea contínua a concentração no plasma manteve-se relativamente constante em 25,8 ng/ml.

Observe-se que em outro trabalho onde se estudou o efeito da forma de aplicação do hormônio, McCUTCHEON e BAUMAN (1986), utilizando a dose de 17,8 mg por dia do BST - semelhante à utilizada neste experimento (260 mg : 14 = 18,6 mg/dia) - obtiveram também respostas semelhantes para infusões contínuas e injeções únicas diárias sub-cutâneas, sendo que o nível do hormônio no sangue para a infusão contínua foi de 10,6 ng/ml, nível este semelhante aos níveis detectados por ocasião do parto por INGALLS et alii (1973), como já foi comentado anteriormente.

Quanto ao modo de ação, ou efeitos do hormônio de crescimento (ou BST), que levam os animais a produzirem significativamente mais leite, quando submetidos ao tratamento, duas situações devem ser consideradas:

1º) em tratamentos de curta duração, não se observam aumentos no consumo de alimentos (e de energia) compatíveis com os aumentos nas produções de leite (PEEL et alii, 1983; FRONK et alii, 1983; EPPARD, 1985). Ao se considerar que também não se observa aumento na digestibilidade dos alimentos (PEEL et alii, 1981), chega-se à conclusão que a partição de nutrientes dos tecidos corporais para a glân-

dula mamária, para síntese do leite extra, juntamente com outros mecanismos homeorréticos, sejam os responsáveis pelo aumento na produção do leite, (mecanismos estes pesquisados e revisados por PEEL e BAUMAN (1987) e que podem ser resumidos como consistindo em: aumento na perda irreversível e diminuição da taxa de oxidação da glicose e aumento na taxa de oxidação de ácidos graxos livres; mobilização das reservas corporais de proteína, gordura e minerais e talvez de glicogênio, concomitantemente com um aumento no fluxo sanguíneo para a glândula mamária), de forma que é congruente a perda de condição corporal dos animais tratados, detectada em alguns experimentos de curta duração (GALTON e SAMUELS, 1989; WEST et alii, 1989).

2ª) durante o tratamento de longa duração, observa-se geralmente aumento gradual do consumo de alimentos, para suporte da maior produção de leite, para animais tratados com BST (BAUMAN et alii, 1985); CHALUPA et alii, 1986; ANNEXTAD et alii, 1987; ELVINGER et alii, 1988; ANNEXTAD et alii, 1989; GREEN et alii, 1989).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da fazenda

O experimento foi conduzido na fazenda Pí-nhalzinho, que está localizada no estado de São Paulo, região sudeste do Brasil, a 180 km a noroeste da cidade de São Paulo, no município de Araras (latitude 22,22 S; longitude 47,23 W; altitude de 630 m acima do nível do mar).

A área total da propriedade é de 1940 ha, de solo predominantemente do tipo latossolo vermelho escuro fase arenosa, distribuídos entre o cultivo da cana de açúcar, citrus, bovinocultura de leite e criação de cavalos, sendo que o milho para ensilagem é produzido nas áreas de reforma dos canaviais.

O rebanho leiteiro, constituído na sua maioria por vacas da raça holandesa preta e branca, apresentou como média, durante os meses do experimento, um total de 750 cabeças, 220 vacas em lactação e produção de 3.300 litros de leite tipo B por dia.

Silagem de milho (com 0,5% de uréia, acrescentada na ensilagem) era o principal alimento volumoso fornecido aos animais durante todo o ano, tendo sido produzidas

zidas 5.000 toneladas em 1987 (ano anterior ao experimento). O concentrado e a mistura mineral eram misturados na própria fazenda, sendo que parte do milho, todo o suplemento protéico, os compostos minerais, a uréia, o calcário e a farinha de ossos eram adquiridos fora da propriedade. Também se produzia na fazenda feno de gramíneas, fornecido como complemento alimentar ao rebanho.

Na fazenda Pinhalzinho, adota-se o sistema de confinamento em piquetes para os animais, após a desmama, em crescimento, novilhas e vacas secas, subentendendo-se neste caso que toda a necessidade alimentar dos animais é suprida através do alimento fornecido no cocho (silagem + feno + concentrado). As vacas em lactação são, por sua vez, confinadas em dois galpões com instalações do tipo estabulação livre ("free-stall"), nos quais se utiliza areia como cama nas baias de repouso. As vacas recém-paridas e na primeira fase de lactação, divididas em quatro lotes, de acordo com número de partições (primíparas e multíparas separadas) e nível de produção, são alojadas num dos galpões "free stall" situado a poucos metros da sala de ordenha. Um segundo galpão se encontra a aproximadamente 100 m da sala de ordenha, onde se alojam as vacas em estágio mais avançado e no final da lactação, divididas em seis lotes, também de acordo com nível de produção e número de partições, sendo cada lote constituído por 22 a 25 animais.

Por ocasião do experimento, o controle lei-

teiro era feito a cada dez dias (no quinto, décimo quinto e vigésimo quinto dias de cada mês), visando obter as produções individuais e a média de cada lote, para possível remanejamento dos animais nos lotes e para o cálculo da quantidade de concentrado a ser fornecido a cada lote, seguindo as proporções discriminadas a seguir (kg concentrado : kg leite):

- lotes 1 e 2 (vacas recém-paridas multíparas) = 1:2,5
- lotes 3 e 4 (vacas recém-paridas primíparas) = 1:2,0
- lote 5 (vacas multíparas) = 1:3,0
- lotes 6 e 7 (vacas primíparas) = 1:2,5
- lote 8 (primíparas e multíparas) = 1:3,0
- lotes 9 e 10 (primíparas e multíparas) = sem concentrado

O total do concentrado destinado a cada lote era distribuído manualmente nos cochos, duas vezes ao dia, sendo metade após a ordenha da manhã e metade após a ordenha da tarde. O concentrado era distribuído sobre a silagem, a qual era fornecida para consumo "ad libitum" e distribuída por vagão forrageiro. O feno, por sua vez, era fornecido durante a noite na base de 1 a 2 kg por cabeça.

A ordenha era feita duas vezes ao dia (5:00 e 16:00 horas) em um sistema Alfa-Laval, duo-vac, espinha de peixe duplo-8 (16 balões de medição). O processo de ordenha, executado por quatro ordenhadores, iniciava-se com a lavagem das tetas das vacas com água e solução de cloro, após o que era feita a secagem com toalhas de papel e o teste em caneca



de fundo preto para detecção de mastite. Ao final da ordenha de cada animal, era feita a desinfecção das tetas com solução comercial de iodo, aplicada com pulverizadores.

Nos casos de mastite, a ordenha mecânica era executada normalmente, se possível, e o leite retirado separadamente, lavando-se o balão coletor e as teteiras, antes do próximo uso. Os animais acometidos de mastite eram tratados via intra-mamária e intra-muscular (nos casos mais graves) e mantidos nos respectivos lotes, tendo-se o cuidado de anotar em fichas adequadas o quadro clínico e o tratamento de todo animal doente, em cada ordenha.

Na propriedade pratica-se a inseminação artificial dos animais, com sêmen de touros provados norte-americanos da raça holandesa preta e branca, desde 1981, época em que o rebanho era predominantemente cruzado (1/2 e 3/4 sangue zebu). A taxa de descarte de animais, nos três anos anteriores ao presente trabalho, foi de 30% ao ano, sendo que os animais em lactação por ocasião do experimento eram da segunda e terceira gerações desde que o programa de melhoramento genético foi implantado.

Os animais detectados em cio eram removidos temporariamente de seus lotes e colocados junto com as novilhas, até o momento adequado para a inseminação.

Todos os animais do rebanho leiteiro da fazenda Pinhalzinho são marcados a frio para identificação.

### 3.2. Condução do experimento

Para a execução do experimento, foram selecionadas inicialmente 65 vacas, tomando-se como base: o estágio de lactação (50 a 180 dias pós-parto por ocasião da primeira aplicação do BST); nível de produção de leite (acima de 14,0 kg/dia); número de parições (primíparas e múltiparas em proporção semelhante à existente no rebanho - 54 : 46%, respectivamente); condição corporal mínima de 2,5 (numa escala de 1 a 5, onde o valor 1 seria atribuído a animais muito magros e o valor 5 a animais extremamente gordos) e saúde em geral.

Os animais escolhidos foram identificados através de colares de corda fina de "nylon" com plaquetas plásticas numeradas e também através de tornozeleiras plásticas coloridas, para melhor visualização dos animais pertencentes ao experimento a partir do fosso da sala de ordenha.

No último dia do período de pré-tratamento, foram rejeitados seis animais, por apresentarem baixa produção de leite ou problemas de saúde, como mastite e doenças do casco, ou ainda condições corporais inadequadas. Os 59 animais remanescentes (32 primíparas e 27 múltiparas) foram distribuídos aleatoriamente, através de sorteio, entre os dois tratamentos, 0 (controle) ou 260 mg rBST-FLL aplicados a cada 14 dias (delineamento totalmente casuali-

zado). Manteve-se dentro de cada tratamento aproximadamente a proporção inicial entre vacas primíparas e multíparas, sendo que 29 animais foram sorteados para o tratamento com placebo (controle) e 30 animais para o tratamento com rBST-FLL (somatotropina bovina recombinante de liberação lenta da MOBRASA - Monsanto do Brasil S/A).

Após o sorteio, obtiveram-se estágios de lactação médios de 99,4 (51 a 154) dias pós-parto para os animais do controle, e de 106 (58 a 182) dias pós-parto para os animais do tratamento com rBST, considerando-se a situação no 1º dia do período de tratamento.

As vacas selecionadas para o experimento permaneceram distribuídas pelos lotes normais da fazenda, de acordo com seu nível de produção, estágio da lactação e número de partições.

Foram feitas no total 6 aplicações do rBST-FLL, na forma de implantes sólidos ("pellets"), sendo uma aplicação a cada 14 dias, durante 84 dias do período de tratamento (início no dia 16 de março de 1988). As aplicações foram feitas após a ordenha da manhã, prendendo-se as vacas, nas próprias baias do "free stall". A aplicação dos implantes era feita com seringa apropriada, por via sub-cutânea, na parte posterior à paleta dos animais, alternando-se os lados a cada aplicação.<sup>1</sup>

1. Os animais do tratamento controle recebiam apenas a picada da agulha.

Durante toda a duração do experimento (14 dias de pré-tratamento, 84 dias de tratamento e 14 dias de pós-tratamento), foram anotadas as produções de leite individuais de cada animal do experimento, durante as duas ordenhas diárias, fazendo-se a leitura da produção, diretamente na escala (em kg) dos balões coletores, permitindo-se aos animais experimentais o acesso normal à sala de ordenha, juntamente com seus respectivos lotes.

Dentro do manejo normal da fazenda, realizavam-se as mudanças dos animais entre os lotes, por ocasião do controle leiteiro (a cada dez dias), levando-se em conta o estágio da lactação, a produção média dos dois últimos controles e o controle do dia. No caso dos animais do presente experimento, para se determinar a necessidade de se fazer possíveis mudanças de lote, levou-se sempre em conta a média de produção das duas segundas-feiras anteriores ao dia do controle leiteiro normal da fazenda. Esse procedimento foi adotado para que os animais do experimento não fossem penalizados, por uma mudança para um lote recebendo menos concentrado, devido a qualquer problema que o animal sofresse prejudicando-lhe a produção no dia do controle.

Todos os animais do experimento foram observados diariamente, anotando-se qualquer sintoma de problemas de saúde, mudanças no comportamento, eventuais tratamentos e(ou) medicações, bem como os eventos ligados à reprodução, como hora do início do cio e da inseminação e lavagens in-

tra-uterinas . No trabalho de observação, ficaram envolvidos, além dos pesquisadores, todos os encarregados pelo manejo do rebanho, como inseminadores, ordenhadores, tratadores e o capataz.

Amostras individuais do leite dos animais experimentais foram coletadas todas as semanas (segundas à tarde e terças pela manhã), durante todo o período do experimento, para determinação do teor de gordura. Para se fazer a amostragem, promovia-se a homogeneização do leite, deixando-se entrar o ar pela parte inferior dos balões coletores, ao término da ordenha de cada animal e após a leitura do total produzido. Coletava-se, em cada ordenha, 1% da produção de cada vaca, utilizando-se de provetas graduadas. O leite coletado dessa maneira era colocado em vidro apropriado, identificado com o número de cada animal e estocado em geladeira (até a manhã seguinte, no caso da ordenha da tarde). As amostras compostas de duas ordenhas eram acondicionadas em caixas de isopor, com bolsas de gelo, e encaminhadas ao laboratório da ESALQ (distante 70 km), logo após as ordenhas das manhãs de terça-feira, para serem analisadas no mesmo dia.

Amostras do concentrado foram retiradas todos os dias, coletando-se pequenas porções de diversos sacos da ração a ser usada no dia, compondo sub-amostras diárias (com exceção dos domingos). As sub-amostras assim obtidas eram colocadas em pequeno saco plástico etiquetado, contendo

cerca de 300 g de amostra diária. As seis sub-amostras obtidas desta maneira, por semana, eram posteriormente reunidas em uma amostra composta semanal, em laboratório da ESALQ, onde eram analisadas.

A silagem de milho foi coletada uma vez por semana, em diversos pontos dos cochos de alimentação, logo após a descarga pelo vagão forrageiro, até se obter 5 a 6 kg do material, que era então acondicionado em saco plástico e estocado em congelador (-15 a -18°C) até o envio para análise nos laboratórios da ESALQ. O feno foi amostrado e analisado uma vez em cada período experimental (pré-tratamento, tratamento e pós-tratamento).

As análises convencionais dos alimentos, necessárias para análise dos resultados do experimento, foram feitas de acordo com os métodos do A.O.A.C (1975) e as análises de componentes da parede celular pelos métodos de GOERING e VAN SOEST (1970). A silagem de milho teve a matéria seca determinada pela destilação com tolueno e o nitrogênio total e amoniacal foram determinados em amostras frescas. O teor de gordura do leite foi determinado pelo método de BABCOCK (A.O.A.C., 1975).

As formulações do concentrado e da mistura-mineral, utilizadas durante o experimento, podem ser encontradas na Tabela 1 e as composições em nutrientes do concentrado, da silagem e do feno estão descritas na Tabela 2.

As variações na produção e teor de gordura

do leite foram analisadas estatisticamente pelo "STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM" (1982), sendo que as médias de cada variável analisada, durante os 14 dias de pré-tratamento, foram incluídas no modelo como covariáveis, visando reduzir o erro experimental. Para cada variável, as análises foram feitas utilizando-se a média diária de cada sub-período de 14 dias entre as injeções do período de tratamento, bem como a média total de cada período experimental.

TABELA 1 - FÓRMULA DO CONCENTRADO E DA MISTURA MINERAL\*

INGREDIENTE	%
Milho moido	54,0
Soja grão	20,0
Farelo de algodão	20,0
Uréia	1,0
Calcáreo	2,0
Farinha de ossos	1,5
Enxofre elementar	0,5
Mistura mineral *	1,0

\* Composição da mistura mineral (%):

Cloreto de sódio.....	92,27
Sulfato de zinco.....	2,50
Sulfato de magnésio.....	4,20
Sulfato de cobre.....	0,80
Sulfato de cobalto.....	0,07
Selenito de sódio.....	0,04
Vitamina A.....	10.000 IU/kg de concentrado



TABELA 2 - COMPOSIÇÃO EM NUTRIENTES DO CONCENTRADO,  
SILAGEM E FENO\*

NUTRIENTES	%		
	CONCENTRADO	SILAGEM	FENO
Matéria seca	88,0	33,2	75,8
Proteína bruta	23,9	9,6	13,0
Fibra bruta	6,3	25,4	32,4
FDA <sup>1</sup>	10,1	32,4	39,4
FDN <sup>2</sup>	ND <sup>4</sup>	ND	75,2
Extrato etéreo	7,4	6,9	3,4
ENN <sup>3</sup>	56,6	53,9	42,3
N-ADF (% do N total)	ND	9,8	11,1
N-NH <sub>3</sub> (% do N total)	ND	28,7	ND

\* Todos os valores são expressos na base de 100% de matéria seca.

1. FDA = fibra em detergente ácido;
2. FDN = fibra em detergente neutro;
3. ENN = extrativo não nitrogenado;
4. ND = não determinado.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de produção e porcentagem de gordura do leite, obtidos para os animais do experimento nos 14 dias de pré-tratamento, podem ser encontrados na Tabela 3. A produção média de leite (kg/vaca/dia) dos animais controle e do tratamento com rBST-FLL foram estatisticamente iguais (21,6 e 21,9 kg respectivamente). Também foram semelhantes as produções do controle e do tratamento com BST para leite corrigido 3,5% de gordura (20,8 e 20,9 kg respectivamente) e para o teor de gordura do leite (3,3 e 3,2% respectivamente). Os animais controle apresentaram produções individuais de leite variando de 14,5 a 31,6 kg/dia e os do tratamento BST uma variação de 14,8 a 30,4 kg/dia.

Os efeitos dos tratamentos sobre a produção de leite e leite corrigido, para cada subperíodo e no período total de tratamento (dias 1 a 84), são apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente, onde pode ser observado que as vacas tratadas com BST apresentaram produções médias significativamente maiores ( $P < 0,01$ ) do que as vacas do controle, dentro de cada subperíodo e no período total de tratamento, tanto para a produção de leite (21,9 x 20,1

TABELA 3 - PRODUÇÃO E PORCENTAGEM DE GORDURA DO LEITE  
NO PERÍODO DE PRÉ-TRATAMENTO\*

PARÂMETROS	CONTROLE (0 mg BST/14 dias)	BST (260 mg/14 dias)
Leite (kg/vaca/dia)	21,6	21,9
Leite corrigido: 3,5% de gordura (kg/vaca/dia)	20,8	20,9
Gordura do leite (%)	3,3	3,2

\* Valores médios para os 14 dias do período.

TABELA 4 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A PRODUÇÃO DE LEITE

PERÍODO EXPERIMENTAL (dias)	TRATAMENTO (DOSE DO BST) (mg/14 dias)	Nº DE ANIMAIS	PRODUÇÃO <sup>1</sup> DE LEITE (kg/vaca/dia)	ALTERAÇÃO NA PRODUÇÃO DE LEITE (%)
1-14	0	29	21,7 <sup>a</sup>	9,1
	260	30	23,6 <sup>b</sup>	
15-28	0	29	20,8 <sup>a</sup>	9,6
	260	30	22,8 <sup>b</sup>	
29-42	0	29	20,5 <sup>a</sup>	7,0
	260	30	22,0 <sup>b</sup>	
43-56	0	29	19,9 <sup>a</sup>	8,0
	260	30	21,5 <sup>b</sup>	
57-70	0	29	19,3 <sup>a</sup>	9,2
	260	30	21,1 <sup>b</sup>	
71-84	0	29	18,4 <sup>a</sup>	9,6
	260	30	20,2 <sup>b</sup>	
1-84	0	29	20,1 <sup>a</sup>	8,9
	260	30	21,9 <sup>b</sup>	

1 Resultados são expressos como médias dos quadrados mínimos ajustados para produções do pré-tratamento.

a,b Médias seguidas de letras diferentes, dentro de um período de estudo, são significativamente diferentes ( $P < 0,01$ ).

TABELA 5 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A PRODUÇÃO  
DE LEITE CORRIGIDO - 3,5% DE GORDURA

PERÍODO EXPERIMENTAL (dias)	TRATAMENTO (DOSE DO BST) (mg/14 dias)	Nº DE ANIMAIS	PRODUÇÃO <sup>1</sup> DE LEITE CORRIGIDO (kg/vaca/dia)	ALTERAÇÃO NA PRODUÇÃO DE LEITE (%)
1-14	0	29	21,1 <sup>a</sup>	12,8
	260	30	23,8 <sup>b</sup>	
15-28	0	29	20,3 <sup>a</sup>	13,3
	260	30	22,9 <sup>b</sup>	
29-42	0	29	20,1 <sup>a</sup>	9,4
	260	30	22,0 <sup>b</sup>	
43-56	0	29	19,5 <sup>a</sup>	11,3
	260	30	21,7 <sup>b</sup>	
57-70	0	29	19,3 <sup>a</sup>	11,8
	260	30	21,6 <sup>b</sup>	
71-84	0	29	18,3 <sup>a</sup>	11,8
	260	30	20,5 <sup>b</sup>	
1-84	0	29	19,8 <sup>a</sup>	11,6
	260	30	22,1 <sup>b</sup>	

<sup>1</sup> Calculado como  $(0,4337 \times \text{peso de leite}) + (16,218 \times \text{peso gordura})$

a, b Médias seguidas de letras diferentes, dentro de um período de estudo, são significativamente diferentes ( $P < 0,01$ ).

kg/vaca/dia) quanto para leite corrigido ( $22,1 \times 19,8$  kg/vaca/dia). As vacas tratadas com BST produziram em média 8,8% (1,7 kg) mais leite e 11,7% (2,3 kg) a mais de leite corrigido, do que os animais controle, no período total de tratamento, demonstrando o efeito galactopoiético do BST no presente estudo. As Figuras 1 e 2 mostram graficamente os efeitos do BST, sobre a produção de leite e leite corrigido, durante o período experimental. A amplitude de variação para o aumento na produção de leite foi de 7,0 a 9,6% (1,4 a 2,0 kg/vaca/dia) e para o leite corrigido de 9,4 a 13,3% (1,9 a 2,7 kg/vaca/dia) devido ao tratamento com BST, dentro dos subperíodos de tratamento.

O aumento na produção de leite, devido ao tratamento com BST, detectado no presente experimento, é congruente com os resultados obtidos pela ampla maioria dos trabalhos de pesquisa realizados sobre o assunto (vide revisão da literatura deste trabalho). O nível de resposta obtido, para aumento médio da produção de leite corrigido (11,7%), enquadra-se dentro das amplitudes de resposta observadas por JENNY et alii (1989), que utilizou animais em estágio de lactação semelhante, onde os aumentos médios obtidos para doses de 140 e 350 mg rBST-FLL, aplicadas a intervalos de 14 dias, foram de 5 e 14% respectivamente. Resultados bastante semelhantes foram também relatados por FRANSON et alii (1989), que testaram doses de 250; 500 e 750 mg rBST-FLL administradas a cada 14 dias, desde os 60

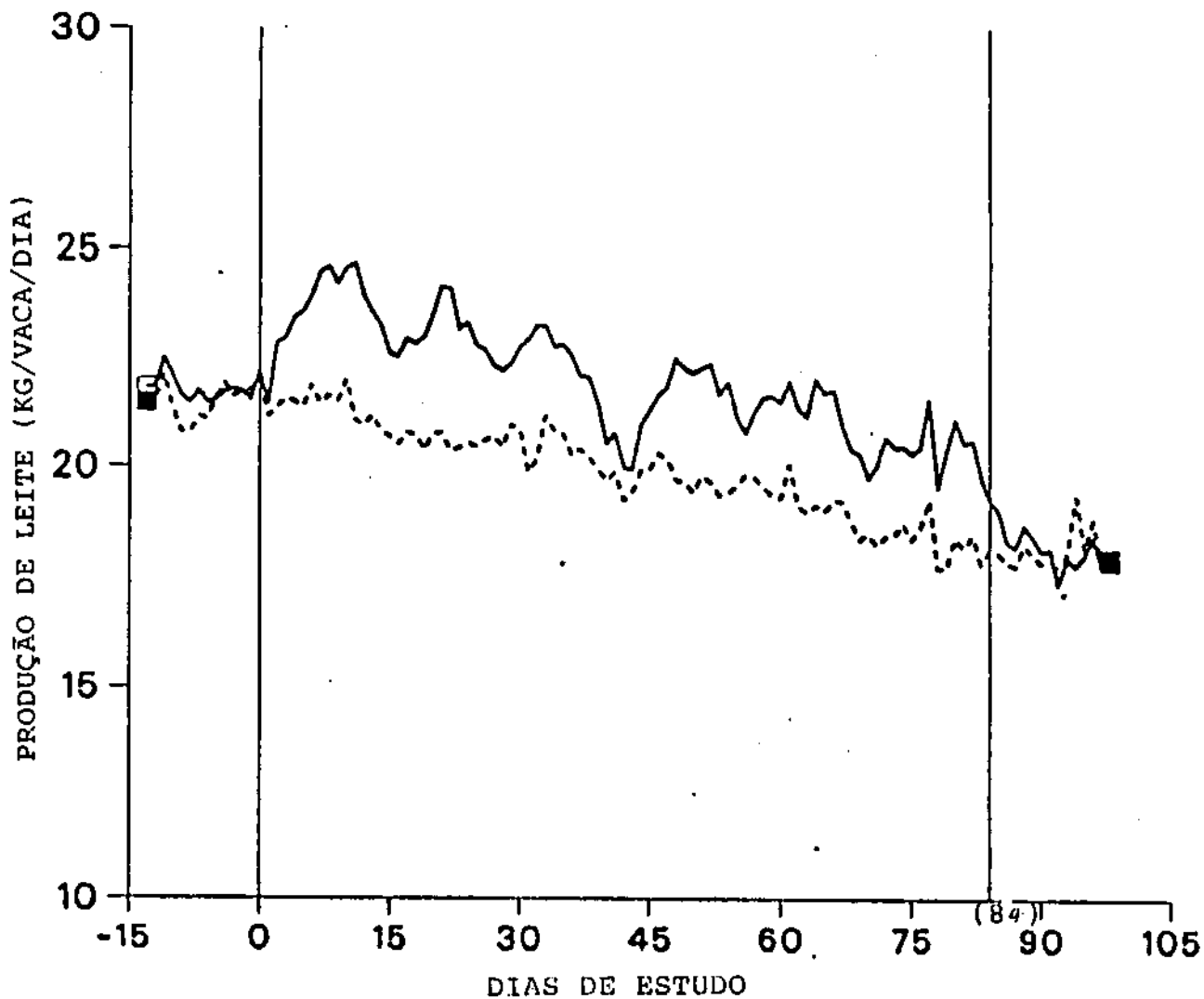


FIGURA 1 - EFEITO DO BST SOBRE A PRODUÇÃO DE LEITE

Legenda: — BST (260 mg rBST-FLL/14 dias)  
- - - Controle (0 mg rBST-FLL/14 dias)

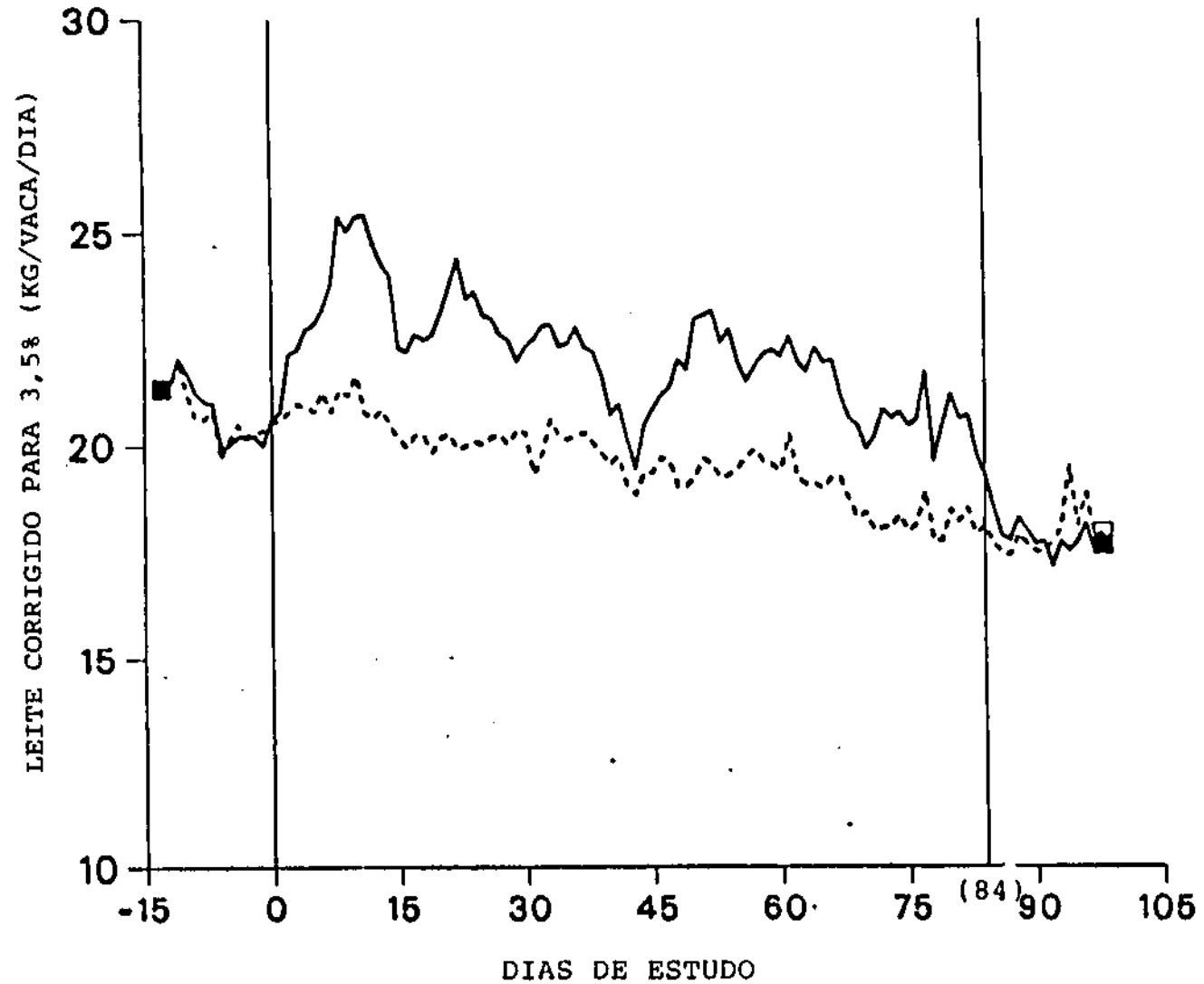


FIGURA 2 - EFEITO DO BST SOBRE A PRODUÇÃO DE LEITE CORRIGIDO PARA 3,5% DE GORDURA

Legenda: — BST (260 mg rBST-FLL/14 dias)  
 ---- Controle (0 mg rBST-FLL/14 dias)



dias pós-parto até o término da lactação, obtendo aumento médio de 12% para a dose de 250 mg/14 dias.

As respostas obtidas no presente trabalho foram superiores às encontradas em alguns experimentos anteriores, onde se utilizaram doses maiores do BST, como os de FIRKINS et alii (1989) e ROCK e PATTERSON (1989). Outros experimentos utilizaram doses superiores obtendo resultados também superiores, em termos de aumento na produção de leite (MATTOS et alii, 1989; THOMAS et alii, 1991), o que é coerente, tendo em vista a correlação positiva entre tamanho da dose e nível de resposta que sabe-se existir quando se utiliza BST, como agente galactopoiético (EPPARD et alii, 1985; ERDMAN et alii, 1990).

O efeito do tratamento com BST sobre o teor de gordura do leite, dentro de cada subperíodo e durante todo o período de tratamento, pode ser encontrado na Tabela 6. Os animais tratados com BST apresentaram significativamente ( $P < 0,05$ ) maior teor de gordura no leite do que o controle, durante os dois primeiros subperíodos de aplicação (3,5 x 3,4% respectivamente) e na média de todo o período de tratamento (3,6 x 3,4% respectivamente). Na Figura 3 pode ser observado que uma tendência na manutenção de maior teor de gordura do leite, pelos animais tratados com BST, foi mantida nos quatro últimos subperíodos de tratamento (semanas 04 a 12).

Aumentos nos teores de gordura do leite, de

TABELA 6 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A PORCENTAGEM DE GORDURA DO LEITE<sup>1</sup>

PERÍODO EXPERIMENTAL (dias)	TRATAMENTO (DOSE DO STB) (mg/14 dias)	Nº DE ANIMAIS	GORDURA NO LEITE (%)
1-14	0	29	3,4 <sup>a</sup>
	260	30	3,5 <sup>b</sup>
15-28	0	29	3,4 <sup>a</sup>
	260	30	3,5 <sup>b</sup>
29-42	0	29	3,4
	260	30	3,5
43-56	0	29	3,4
	260	30	3,6
57-70	0	29	3,5
	260	30	3,7
71-84	0	29	3,5
	260	30	3,6
1-84	0	29	3,4 <sup>a</sup>
	260	30	3,6 <sup>b</sup>

1 Resultados são expressos como médias dos quadrados mínimos ajustados para produções do pré-tratamento.

a,b Médias seguidas de letras diferentes, dentro de um período de estudo, são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

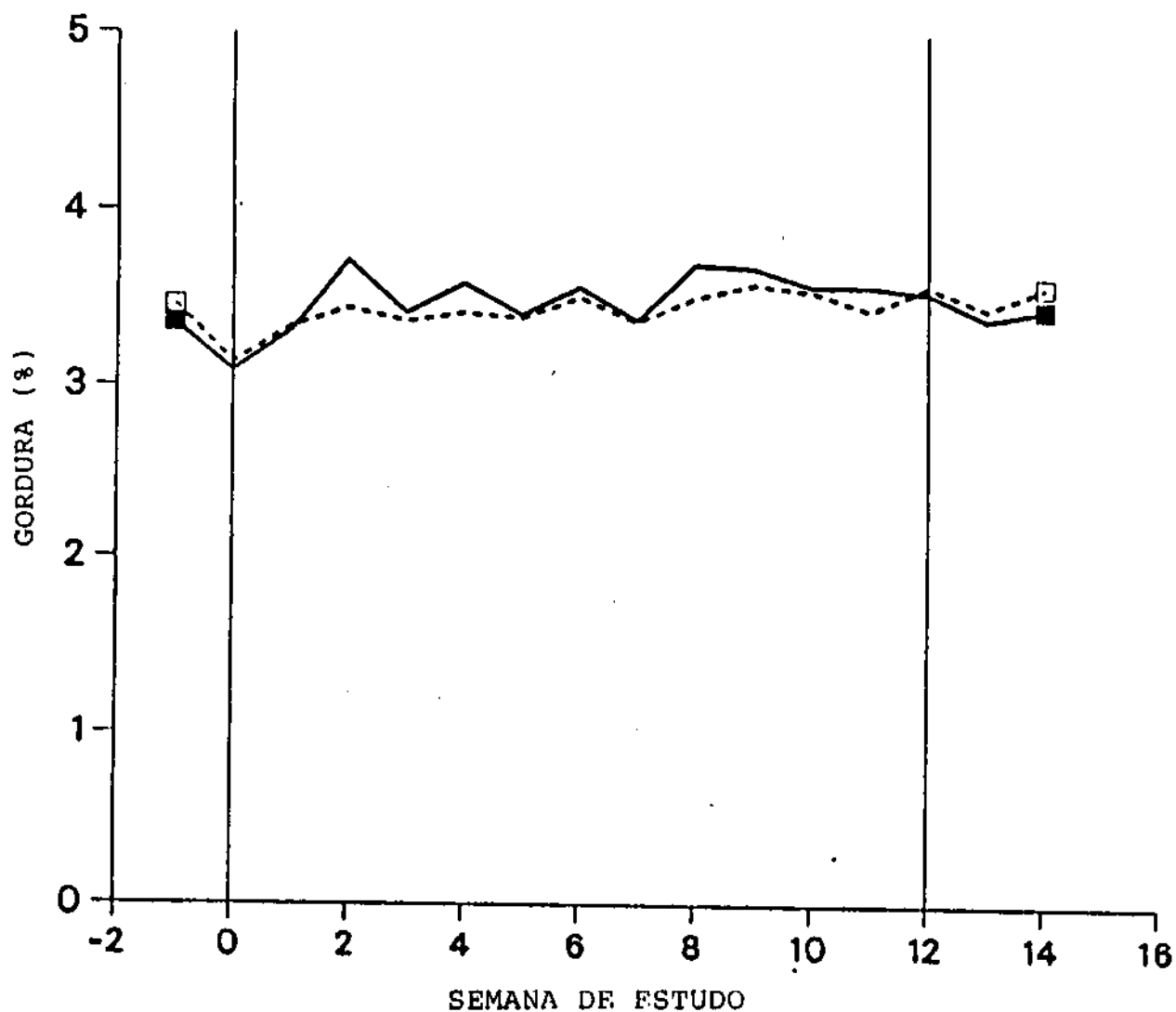


FIGURA 3 - EFEITO DO BST SOBRE A PORCENTAGEM DE GORDURA DO LEITE

Legenda: — BST (260 mg rBST-FLL/14 dias)  
---- Controle (0 mg rBST-FLL/14 dias)

animais tratados com BST, foram também detectados em outros experimentos, onde o período de tratamento foi inferior a 90 dias (PEEL et alii, 1981; RICHARD et alii, 1985; EPPARD et alii, 1985), sendo o fato explicável pois o uso do BST promove rápido aumento na produção de leite sendo que, por outro lado, o consumo de alimentos leva algum tempo para se ajustar ao novo nível de produção, criando-se assim um déficit nutricional, durante o qual, sob a influência do BST, reservas corporais são mobilizadas para síntese do leite, o que juntamente com outras adaptações fisiológicas homeorréticas, leva a aumentos desproporcionais para gordura em relação ao leite como um todo (vide capítulo deste trabalho - Efeito do BST sobre constituintes do leite).

Na análise dos dados de produção de leite, leite corrigido e teor de gordura do leite, obtidos neste trabalho, alguns fatos merecem atenção: 1º) o aumento percentual na produção de leite devido ao tratamento com BST foi aparentemente menor no 3º subperíodo (7%), voltando aos maiores níveis percentuais de resposta com o passar do tempo (9,6% no último subperíodo); 2º) diferença significativa no teor de gordura do leite entre os tratamentos deixou de ocorrer no 3º subperíodo, porém uma tendência no maior teor de gordura do leite para os animais tratados com BST ocorreu até o fim do período de tratamento.

Para possível explicação dos resultados obtidos no presente trabalho, deve-se lembrar que: a) vacas

especializadas para produção de leite normalmente apresentam balanço negativo de energia durante o primeiro terço da lactação (BAUMAN e CURRIE, 1980); b) vacas tratadas com BST podem utilizar reservas corporais (gordura corporal) para sustentar aumento na produção de leite, quando se encontram em déficit nutricional ou em balanço negativo de energia (PEEL e BAUMAN, 1987), apresentando maior teor de gordura no leite, sob estas condições (PEEL et alii, 1981; EPPARD et alii, 1985); c) animais tratados com BST apresentam queda no balanço energético logo após o início do tratamento, que só se normaliza com o aumento gradual do consumo, o que deve ocorrer entre a 10ª e 15ª semana de tratamento (SAMUELS et alii, 1989).

Levando em consideração os resultados do experimento e os fatores apresentados, pode-se supor que: a) o maior teor de gordura do leite apresentado pelos animais tratados com BST nos dois primeiros subperíodos foi consequência da existência de grande número de animais (30%) no primeiro terço da lactação (< 100 dias), animais que se encontravam provavelmente em balanço negativo de energia e utilizando reservas corporais para sustentar o aumento na produção de leite, somado ao fato de que mesmo os animais com período de lactação mais avançado, que se encontrassem em balanço energético positivo, devem ter sofrido queda neste balanço, logo após o início do tratamento, necessitando também utilizar reservas corporais para

sustento da maior produção de leite; b) o menor aumento percentual aparente na produção de leite, apresentada pelos animais tratados com BST durante o terceiro subperíodo, foi devido à coincidência da diminuição na disponibilidade de reservas corporais para síntese de leite e um consumo de matéria seca, provavelmente, ainda não ajustado para uma maior produção; c) a volta aos níveis mais elevados de aumentos percentuais na produção de leite, apresentada pelos animais tratados com BST, nos três últimos subperíodos de tratamento, associada à tendência na manutenção de maiores teores de gordura no leite, sugere que houve um ajuste gradual do consumo, compatível com uma maior produção de leite, mas que o consumo de energia permaneceu abaixo do ideal até o final do experimento.

A possível situação de déficit energético ocorrida neste experimento, para os animais tratados com BST, pode ser atribuída ao método de arraçamento utilizado na fazenda, onde a quantidade de concentrado fornecido às vacas em lactação era fixa e baseada na média de produção de cada lote, enquanto que a silagem era oferecida para consumo "ad libidum", levando à conclusão que o único tipo de alimento disponível para suprir o aumento de consumo das vacas tratadas com BST era a silagem de milho, resultando na ingestão de uma dieta com menor densidade energética do que o indicado para a maior exigência dos animais, sendo este fato agravado no caso de haver poucos animais em tra-

tamento com BST num determinado lote, já que o aumento nas suas produções teria pouco, ou praticamente nenhum efeito sobre a produção média de seus lotes e a quantidade de concentrado oferecida.

Pode-se supor que aumentos mais significativos na produção de leite, em resposta à aplicação do BST, seriam obtidos, não fosse a possível ocorrência de deficiências energéticas na ração consumida por aqueles animais durante o experimento (o que poderia ser corrigido pela utilização de ração completa), e o fato do presente estudo ter sido realizado em uma fazenda onde vários problemas de manejo foram observados, como: falta de água para os animais beberem em diversas ocasiões, devido a problemas de abastecimento; frequente fornecimento de silagem insuficiente para consumo "ad libitum"; atraso no fornecimento da ração e uso de silagem retirada do silo com muito tempo de antecedência. Foram fatos também observados: quebras frequentes do vagão forrageiro e da máquina desensiladeira, contribuindo para fornecimento irregular de silagem de qualidade duvidosa (devido a descarregamento desuniforme do silo); mistura de animais entre os lotes, de forma que muitos animais diversas vezes permaneceram durante toda a noite e parte da manhã em lotes onde a quantidade de concentrado não era adequada às suas produções de leite; fornecimento de feno de má qualidade, durante a maior parte do tempo do experimento, sendo frequentemente observada pre-

sença de mofo nos fardos utilizados.

Na Tabela 2 constatou-se o baixo teor de proteína obtido para a silagem de milho enriquecida com 0,5% de uréia, que foi de 9,6% de PB, quando deveria ser bem próximo a 11% e a má qualidade do feno, onde a umidade foi muito alta (24,2%) e o teor de PB determinado pela análise foi baixo (13%).

Também podem ser considerada como fator que limitou as respostas aos níveis obtidos, a presença de grande porcentagem de vacas primíparas (54%) e de animais com menos de 100 dias em lactação (30%), já que estes fatores resultam em menor resposta à ação do BST (THOMAS et alii, 1991).

O resumo das produções de leite, leite corrigido e a porcentagem de gordura do leite, apresentadas pelas vacas no período de 14 dias de pós-tratamento, pode ser encontrado na Tabela 7, não tendo sido observadas diferenças significativas nesses parâmetros entre os tratamentos (controle e BST).

Comparando-se somente os resultados do último subperíodo do tratamento (dias 71 a 84) (Tabelas 4 e 5) com os resultados do período de pós-tratamento (Tabela 7), observa-se que os animais do controle apresentaram uma queda de 0,2 a 0,3 kg/vaca/dia, respectivamente para produção de leite e leite corrigido, ao passo que os animais do tratamento com BST apresentaram declínio de 2,3 e 2,7



TABELA 7 - PRODUÇÃO E PORCENTAGEM DE GORDURA DO LEITE  
NO PERÍODO DE PÓS-TRATAMENTO\*

PARÂMETROS	CONTROLE (0 mg BST/14 dias)	BST (260 mg/14 dias)
Leite (kg/vaca/dia)	18,2	17,9
Leite corrigido: 3,5% de gordura (kg/vaca/dia)	18,0	17,8
Gordura do leite (%)	3,5	3,4

\* Valores médios para os 14 dias do período.

kg/vaca/dia, respectivamente, mostrando o efeito negativo sobre a produção de leite, da eliminação do BST exógeno, devido ao término do tratamento.

Dados sobre os problemas de saúde apresentados pelos animais do experimento, durante o decorrer da pesquisa, estão resumidos na Tabela 8. Nela pode ser visto que 11 animais do controle e 4 animais do tratamento com BST apresentaram problemas como infecção uterina, problemas de casco em geral (bicheiras, brocas), abscessos e outras injúrias. Apesar de não terem sido os dados analisados estatisticamente, pode-se admitir seguramente que essas ocorrências foram em quantidades consideradas normais na fazenda. Ainda na Tabela 8 está relacionado o número de animais que apresentaram mastite clínica para cada tratamento, onde se vê que 2 animais do controle (6,9%) e 7 animais do tratamento com BST (23,3%) apresentaram o problema. Também aqui não foi feita análise estatística dos dados, no entanto, baseando-se na literatura consultada, onde não se observou relação significativa entre o tratamento com BST e aumento na incidência de mastite (BAUMAN et alii, 1985; BURTON et alii, 1990; ANNEXTAD et alii, 1990; THOMAS et alii, 1991), pode ser concluído que a diferença observada no presente experimento foi casual, devendo ser ressaltado ainda que, durante a execução deste trabalho, foram detectados três surtos generalizados de mastite (dias 22/3, 28/3 e 22/5), quando aproximadamente 15% do total das vacas em

TABELA 8 - RESUMO DOS PROBLEMAS DE SAÚDE  
DETECTADOS DURANTE O EXPERIMENTO

FATORES	Número de Animais Acometidos	
	CONTROLE	BST
Ferimentos em geral	3	2
Abcessos	2	0
Infecções uterinas	2	0
Problemas de casco	4	2
Mastite	2	7

lactação de todo o rebanho foram acometidas da doença, em cada ocasião.

Deve ser finalmente observado que 7 animais apresentaram pequena reação no local de aplicação do BST, caracterizada pela ocorrência de pequenas protuberâncias no local das injeções, que no entanto desapareceram com o passar do tempo. Tais reações podem ser creditadas ao tipo de veículo (sólido) utilizado para o BST, neste experimento.

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

1º) a utilização do rBST-FLL (somatotropina bovina recombinante, em veículo de liberação lenta), na dosagem de 260 mg aplicados a cada 14 dias, possibilitou aumentos significativos na produção de leite (21,9 x 20,1 kg/vaca/dia) e de leite corrigido para 3,5% de gordura (22,1 x 19,8 kg/vaca/dia), em vacas mantidas em confinamento, mesmo tendo sido observados na fazenda alguns problemas de manejo e alimentação, que podem ser considerados comuns nas fazendas brasileiras.

2º) o aumento no teor de gordura do leite, observado neste experimento, é característico do tratamento com BST por períodos inferiores a 100 dias e advém de uma defasagem entre consumo de alimentos (energia) e produção de leite.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando-se em conta os resultados apresentados pela literatura, pode-se considerar que:

a) Aumentos na produção de leite de maior magnitude do que o observado neste experimento podem ser esperados de animais tratados com somatotropina bovina (BST) através da utilização de técnicas mais apuradas de manejo e alimentação.

b) Animais tratados com BST têm suas exigências nutricionais aumentadas em decorrência da maior produção de leite, de forma que cuidados especiais devem ser tomados na sua alimentação (no caso de tratamento por longo período com o hormônio), para que possam chegar ao término de suas lactações em boa condição corporal.

Produtores e técnicos devem estar cientes das consequências da utilização do BST, como aumento do consumo de alimentos e da exigência nutricional dos animais tratados, e estar capacitados a manejá-los adequadamente, para que uma possível utilização generalizada do produto possa vir a ser um meio eficiente e seguro de se aumentar a produtividade do rebanho leiteiro em nosso país, e não ve-

nha a se tornar, por outro lado, mais um fator a sobrecarregar nossas vacas, tão frequentemente mal nutridas e manejadas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANNEXSTAD, R. J.; OTTERBY, D.E.; LINN, J.G.; HANSEN, W. P.; SODERHOLM, C. G. & EGGERT, R. G. Response of cows to daily injections of recombinant bovine somatotropin (BST) during a second consecutive lactation. *J. Dairy Sci.*, 70(suppl. 1):176(abstr.). 1987.
- ANNEXSTAD, R. J.; DE GREGORIO, R. M.; ANDERSON, D. & COCK, D. W. Effect of 14 day sustained release recombinant bovine somatotropin formulation on performance of holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1):328(abstr.).1989.
- ANNEXSTAD, R. J.; OTTERBY, D.E.; LINN, J. G.; HANSEN, W.P.; SODERHOLM, C. G., WHESTON, J. E. & EGGERT, R. G. Somatotropin treatment for a second consecutive lactation. *J. Dairy Sci.*, 73:2423. 1990.
- ARAMBEL, M. J, PELLERMANN, S. O. & LAMB, R. C. The effect of sometribove (recombinant methionyl bovine somatotropin) on milk production response in lactating dairy cows: A field trial. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1):451 (abstract). 1989.
- ARMSTRONG, D. G. The implications of biotechnology for livestock production, nutrition and health. *Nutrition Abstracts and Reviews (series B)*, 58:415. 1988.
- ASDELL, S. A. The effect of the injection of hypophyseal extract in advanced lactation. *Am. J. Physiol.*, 100:137. 1932.
- AZIMOV, G. J. & KROUZE, N. K. The lactogenic preparions from the anterior pituitary and the increase of milk yield in cows. *J. Dairy Sci.*, 20:289. 1937.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 12<sup>o</sup> ed. AOAC. Washington, DC. 1975.
- BAIRD, L. S.; HENKEN, R. W.; HORMAN, R. J. & EGGERT, R. G. Response of lactating dairy cows to recombinant bovine growth hormone (rbGH). *J. Dairy Sci.*, 69(suppl.1):118 (abstr.). 1986.



- BALDWIN, R. L. & MIDDLETON, S. C. Biology of bovine somatotropin. National Invitational Workshop on Bovine Somatotropin. St. Louis, Missouri. 1987.
- BAUMAN, D. E. & CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, 63:1514. 1980.
- BAUMAN, D. E.; DE GEETER, M. J.; PEEL, C. J.; LANZA, G. M.; GOREWIT, R. C. & HAMMOND, R. W. Effect of recombinantly derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 65(suppl.1):121(abstr.). 1982.
- BAUMANN, D. E.; EPPARD, P.J.; DE GEETER, M.J. & LANZA, G.M. Response of high-producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 68:1352. 1985.
- BERGMAN, A. J. & TURNER, C. W. The specificity of the lactogenic hormone in the initiation of lactation. *J. Dairy Sci.*, 23:1229. 1940.
- BOER, G. de & KENNELLY, J. J. Sustained-release bovine somatotropin for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1): 432(abstr.). 1989.
- BOURNE, R. A.; TUCKER, H. A. & CONVEY, E. M. Serum growth hormone concentrations after growth hormone or thyrotropin releasing hormone in cows. *J. Dairy Sci.*, 60:1629. 1977.
- BRUMBY, P. J. & HANCOCK, J. The galactopoietic role of growth hormone in dairy cattle. *N. Z. J. Sci. Technol.*, 36.A:417. 1955.
- BURTON, J. L.; McBRIDE, B.W., BURTON, J.N. & EGGERT, R.G. Health and reproductive performance of dairy cows treated for up to two consecutive lactations with bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 73:3258. 1990.
- CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; SCHNEIDER, P. & EGGERT, R.G. Long-term responses of lactating cows to daily injection of recombinant somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 69(suppl.1): 151(abstr.). 1986.
- CHALUPA, W.; BAIRD, L.; SODERHOLM, C.; PALMQUIST, D. L.; HENKEN, R.; OTTERBY, D.; ANNEXSTAD, R.; VECCHIARELLI, B.; HARMON, R.; SINHA, A.; LINN, J.; HANSEN, W.; EHLE, F.; SCHNEIDER, P. & EGGERT, R. Responses of dairy cows to somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 70(suppl.1):176(abstr.). 1987.

- CHUNG, A.C.; SHAW, J.C. & GILL, W. M. The effect of somatotropin on milk production and various blood substances of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 36:589. 1953.
- CLEALE, R. M.; REHMAN, J. D.; ROBB, E. J. ; SINHA, A. ; EHLE, F. R. & NELSON, D. K. On-farm lactation and reproductive response to daily injections of recombinant bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*; 72 (suppl.1) : 429 (abstr.). 1989.
- COLLIP, J. B.; SELYE, H. & THOMSON, D. L. Preparation of a purified and highly potent extract of growth hormone of anterior pituitary lobe. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 30:544. 1933.
- CORNER, G. W. The hormonal control of lactation. *Am. J. Physiol.*, 95:43. 1930.
- COTES, P. M.; REID, E. & YOUNG, F. G. Diabetogenic action of pure anterior pituitary growth hormone. *Nature*, 164: 209. 1949<sub>a</sub>.
- COTES, P. M.; CRICHTON, J. A.; FOLLEY, S. J. & YOUNG, F. G. Galactopoietic activity of purified anterior pituitary growth hormone. *Nature*, 164:992. 1949<sub>b</sub>.
- COWIE, A. T.; TINDAL, J. S. & YOKOYAMA, A. The induction of mammary growth in the hypophysectomized goat. *J. Endocrin.*, 34:185. 1966.
- ELVINGER, F.; HEAD, H. H.; WILCOX, C. J.; NATZKE, R. P. & EGGERT, R. G. Effect of administration of bovine somatotropin on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.*; 71:1515. 1988.
- EPPARD, P. J.; BAUMAN, D. E. & McCUTCHEON, S. N. Effect of dose of bovine growth hormone on lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.*; 68:1109. 1985.
- ERDMAN, R. A.; SHARMA, B. K.; SHAVER, R. D. & CLEALE, R. M. Dose response to recombinant bovine somatotropin from weeks 15 to 44 postpartum in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 73:2907. 1990.
- EVANS, H. M. & LONG, J. A. The effect of the anterior lobe administered intraperitoneally upon growth, maturity and oestrus cycles of the rat. *Anat. Rec.*, 21:62. 1921.
- EVANS, H. M.; NEYER, K.; SIMPSON, M. E. & REICHERT, F. L. Disturbance of carbohydrate metabolism in normal dogs injected with the hypophyseal growth hormone. *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.*, 29:857. 1932.

- FARIA, V. P. de. Produção de leite: conceitos básicos. Ed. Aristeu Mendes Peixoto e outros. Piracicaba: FEALQ. Cap. 2, pág. 5. 1988.
- FIRKINS, J. L; CLEALE, R. M. & CLARK, J. H. Responses of dairy cows to a sustained-release form of recombinant bovine somatotropin. J. Dairy Sci., 72 (suppl.1): 430 (abstr.). 1989.
- FOLLEY, S. J. & YOUNG, F. G. The effect of anterior pituitary extracts on established lactation in the cow. Proc. Royal. Soc. B, 126:45. 1938.
- FOLLEY, S. J. & YOUNG, F. G. The effect of continued treatment with anterior pituitary extracts on milk volume and milk-fat production in the lactating cow. Biochem. J. 33:192. 1939.
- FOLLEY, S. J. & YOUNG, F. G. Further experiments on the continued treatment of lactating cows with anterior pituitary extracts. J. Endocrinology, 2:226. 1940.
- FOLLEY, S. J. & YOUNG, F. G. The galactopoietic action of pituitary extracts in lactating cows. 1. Dose-response relations and total yields during declining lactation. J. Endocrinology, 4:194. 1945.
- FRANSON, S. E.; COLE, W.J.; HOFFMAN, R.G.; MESEROLE, V.K.; SPRICK, D.M.; MADSEN, K.S.; HARTNELL, G.F.; BAUMAN, D.E.; HEAD, H. H.; HUBER, J. T. & LAMB, R. C. Response of cows throughout lactation to sometribove, recombinant methionyl bovine somatotropin, in a prolonged release system - a dose titration study. Part I. Production response. J. Dairy Sci., 72(suppl.1):451(abstr.). 1989.
- FRIEDEN, E. & LIPNER, H. Hormônios da hipófise e hipotálamo. in: Endocrinologia Bioquímica dos Vertebrados, ed. Edgard Blucher e ed. Universidade de São Paulo. Cap. 2, pág. 12. 1975.
- FRONK, T.J.; PEEL, C.J.; BAUMAN, D. E. & GOREWIT, R.C. Comparison of different patterns of exogenous growth hormone administration on milk production in holstein cows. J. Anim. Sci., 57:699. 1983.
- GALTON, D. M. & SAMUELS, W. A. Evaluation of sometribove, USAN (recombinant methionyl) bovine somatotropine on milk production and health. J. Dairy, Sci., 72(suppl.1: 450 (abstr.). 1989.
- GLUCKMAN, .; BREIER, B.H. & DAVIS, S. R. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. J. Dairy Sci., 70:442. 1987.

- GOERING, H.K. & VAN SOEST, P.J. Forage analysis. Agr. Handbook 379. Agric. Res. Serv., USDA, Washington, DC, 1970.
- GREEN, H. B.; SNYDER, D. L., MIYAT, J. A., PARADIS, M. A.; BASSON, R. P., RAKES, A.H., RALEIGHT, N.C. & EMERY, R.S. The effect of somidobove sustained release formulation on second lactation performance of dairy cattle. J.Dairy Sci., 72(suppl.1):453(abstr.). 1989.
- HART, I. C.; BINES, J. A.; MORANT, S. V. & RIDLEY, J. L. Endocrine control of energy metabolism in the cow comparison of the levels of hormones (prolactin, growth hormone, insulin and thyroxime) and metabolites in the plasma of high - and low - yielding cattle at various stages of lactation. J. Endocr. 77:333. 1978.
- HART, I. C.; BINES, J. A.; JAMES, S. & MORANT, S. V. The effect of injecting or infusing low doses of bovine growth hormone on milk yield, milk composition and the quantity of hormone in the milk serum of cows. Anim. Prod., 40: 243. 1985.
- HUTCHINSON, C. F.; TOMLINSON, J. E. & MCGEE, W. H. The effect of exogenous recombinant or pituitary extracted bovine growth hormone on performance of dairy cows. J. Dairy Sci., 69(suppl. 1):152(abstr.). 1986.
- HUTTON, J. B. The effect of growth hormone on the yield and composition of cows' milk. J. Endocrin. 16:115. 1957.
- INGALLS, W. G.; CONVEY, E. M. & HAFS, H. D. Bovine serum L. H., G. H., and prolactin during late pregnancy, parturition and early lactation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 143:161. 1973.
- JENNY, B. F.; MOORE, M.; TINGLE, R. B.; ELLERS, J. E.; GRIMES, L. W. & ROCK, D. W. Effect of a sustained release somatotropin on lactation performance of dairy cattle. J. Dairy Sci., 72(suppl.1):431(abstr.). 1989.
- KOPROWSKI, J.A. & TUCKER, H.A. Bovine serum growth hormone, corticoids and insulin during lactation. Endocrinology, 93:645. 1973.
- LI, C. H.; EVANS, H. M. & SIMPSON, M. E. Isolation and properties of the anterior hipophyseal growth hormone. J. Biol. Chem., 159:353. 1945.
- MACHILIN, L. J. Effect of growth hormone on milk production and feed utilization in dairy cows. J. Dairy Sci., 56: 575. 1973.

- MATTOS, W.; PIRES, A. V.; FARIA, V. P. de; DUQUE, J. A.; MADSEN, K. S. The effect of somatostatin (recombinant methionyl bovine somatotropin) on milk yields and milk composition in lactating dairy cows in Brazil. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1): 452 (abstr.). 1989.
- MBOE, A. Z.; HEAD, H. H.; BACHMAN, K. C. & WILCOX, C. J. Effect of growth hormone on milk yield feed intake and some physiological functions during environmental stress. *J. Dairy Sci.*, 69(suppl.1):119(abstr.). 1986.
- MBOE, A. Z.; HEAD, H. H.; BACHMAN, K. C.; BACCARI, F. & WILCOX, C. J. Effects of bovine somatotropin on milk yield and composition, dry matter intake, and some physiological functions of holstein cows during heat stress. *J. Dairy Sci.*, 72:907(abstr.). 1989.
- McBRIDE, B. W.; BURTON, J. L.; BURTON, J. H.; MACLEOD, G.K. & EGGERT, R. Multilactational treatment effects of rBST on production responses in lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1):430(abstr.). 1989.
- McBRIDE, B. W.; BURTON, J. L.; GIBSON, J. P.; BURTON, J. H. & EGGERT, R.G. Use of recombinant bovine somatotropin for up to two consecutive lactations on dairy production traits. *J. Dairy Sci.*, 73:3248. 1990.
- McCUTCHEON, S. N. & BAUMAN, D. E. Effect of pattern of administration of bovine growth hormone. *J. Dairy Sci.*, 69:38. 1986.
- McGUFFEY, R. K.; GREEN, H. B. & BOSSON, R. P. Performance of holsteins given bovine somatotropin in a sustained delivery vehicle. Effect of dose and frequency of administration. *J. Dairy Sci.*, 70(suppl.1):177(abstr.). 1987<sub>a</sub>.
- McGUFFEY, R. K.; GREEN, H. B. & FERGSON, T. H. Lactation performance of dairy cows receiving recombinant bovine somatotropin by daily injection or in a sustained release vehicle. *J. Dairy Sci.*, 70(suppl.1):176(abstr.). 1987<sub>b</sub>.
- MIX, L. S. Potential impact of the growth hormone and other technology on the United States dairy industry by the year 2000. *J. Dairy Sci.*, 70:487. 1987.
- MOHAMMED, M. E. & JOHNSON, H. D. Effect of growth hormone on milk yields and related physiological functions of holstein cows exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 68:1123. 1985.

- MUNNEKE; R. L.; SCHINGOETHE, D. J.; CASPER, D. P.; EISEN-  
BIESZ, W. A.; CLEALE, R. M. Lactational evaluation of  
recombinant bovine somatotropin for two consecutive  
lactations. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1):551(abstr.).1989.
- NELSON, W. O. & PFIFFNER, J. J. Studies on the physiology  
of lactation. *Anat. Record*, 51:51. 1931.
- NYTES, A. J., COMBS, D. K.; SHOOK, G. E.; SHAVER, R. D. &  
CLEALE, R. M. Response to recombinant bovine somato-  
tropin in dairy cows with different genetic merit for  
milk production. *J. Dairy Sci.*, 73:784. 1990.
- PEEL, C. J.; BAUMAN, D. E.; GOREWIT, R. C. & SNIFFEN, C. J.  
Effect of exogenous growth hormone on lactational per-  
formance in high yielding dairy cows. *J. Nutr.*, 111:  
1662. 1981.
- PEEL, C. J.; FRONK, T. J. ; BAUMAN, D. E. & GOREWIT, R. C.  
Effect of exogenous growth hormone in early and late  
lactation on lactational performance of dairy cows.  
*J. Dairy Sci.*, 66:776. 1983.
- PEEL, C. J.; SANDLES, L. D.; QUELCH, K.J. & HERINGTON, A.C.  
The effects of long-term administration of bovine growth  
hormone on the lactational performance of identical-twin  
dairy cows. *Anim. Proc.* 41:135. 1985.
- PEEL, C. J. & BAUMAN, D. E. Somatotropin and lactation.  
*J. Dairy Sci.*, 70:474. 1987.
- PHIPPS, R. K. The use of prolonged release bovine somato-  
tropin in milk production. *Nutr. Abstr. and Reviews*  
(series B), 59:36(abstr.). 1989.
- PUTNAM, T. J.; TEEL, H.M. & BENEDICT, E.B. The preparation  
of a sterile, active extract from the anterior lobe of  
the hypophysis. *Am. J. of Physiol.* 84:157. 1928.
- RICHARD, A. L.; McCUTCHEON, S. N. & BAUMAN, D. E. Responses  
of dairy cows to exogenous bovine growth hormone  
administered during early lactation. *J. Dairy Sci.* 68:  
2385. 1985.
- RIDDLE, Q.; BATES, R. W. & DYKSHORN, S. W. The prepara-  
tion, identification and assay of prolactin - a hormone  
of the anterior pituitary. *Am. J. Physiol.* 105:191.1933.
- ROCK, D. W. & PATTERSON, D. L. Lactation performance of  
dairy cows given a sustained release form of recombinant  
bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 72(suppl.1):431  
(abstr.). 1989.

- SAMUELS, W. A.; BAUMAN, D. E.; HUBER, J. T. & LAMB, R. C. Long-term evaluation of sometribove, USAN (recombinant methionyl bovine somatotropin) in a prolonged release formulation on milk production and health of dairy cows at four U.S. clinical trial sites. Monsanto Study Summary Report. 3. (October). 1989.
- SHAW, J. C.; CHUNG, A. C. & BUNDING, I. The effect of pituitary growth hormone and adrenocorticotrophic hormone on established lactation. *Endocrinology*, 56:327. 1955.
- SODERHOLM, C. G.; OTTERBY, D. E., EHLE, F. R.; LINN, J. G.; HANSEN, W. P. e ANNEXSTAD, R. J. Effects of different doses of recombinant bovine somatotropin (rbSTH) on milk production, body composition and condition score in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 69(suppl.1):152(abstr.). 1986.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. SAS User's Guide. Statistics Inst., Cary, N.C. 1982.
- TESKE, R. H. Milk from BST-treated cows. Its safety for human consumption. National Invitational Workshop on Bovine Somatotropin. St. Louis, Missouri. 1987.
- THOMAS, J. W.; SAMUELS, W.A. & MADSEN, K.S. Use of sometribove, USAN (recombinant methionyl) in a prolonged release system in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1):450(abstr.). 1989.
- THOMAS, J. W.; ERDMAN, R. A.; GALTON, D. M.; LAMB, R. C.; ARANBEL, M.J.; OLSON, J.D.; MADSEN, K.S.; SAMUELS, W.A.; PEEL, C. J. & GREEN, G. A. Responses by lactating cows in commercial dairy herds to recombinant bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 74:945. 1991.
- TUCKER, H. A. Physiological control of mammary growth, lactogenesis and lactation. *J. Dairy Sci.*, 64:1403. 1981.
- TURNER, C. D. e BAGNARA, J. T. Pituitary gland: anatomy; secretions of the adenohypophysis. in: *General Endocrinology*. 6<sup>a</sup> ed. W.B. Sanders Company. Philadelphia, London, Toronto. Cap. 4, pág. 77. 1976.
- WEST, J.W.; BONDARI, K.; JOHNSON, J.C.; ASH, K.A. & TAYLOR, V.N. The response of lactating holstein and Jersey cows to recombinant bovine somatotropin (rbST) administered during hot, humid weather. *J. Dairy Sci.*, 72(suppl.1): 427(abstr.). 1989.