

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Leite
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 211

Anais do XX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Leônidas Paixão Passos
Editor Técnico

*Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora, MG
2017*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco
36038-330 Juiz de Fora – MG
Fone: (32) 3311-7405
Fax: (32) 3311-7424
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo

Embrapa Gado de Leite

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente *Pedro Braga Arcuri*

Secretária Executiva *Inês Maria Rodrigues*

Membros *Jackson Silva e Oliveira, Leônidas Paixão Passos, Alexander Machado Auad, Fernando César Ferraz Lopes, Francisco José da Silva Lédo, Pérsio Sandir D'Oliveira, Fábio Homero Diniz, Frank Ângelo Tomita Bruneli, Nívea Maria Vicentini, Letícia Caldas Mendonça, Rita de Cássia Souza Bastos, Rita Palmyra da Costa Pinto, Virginia deSouza Columbiano Barbosa*

Supervisão editorial *Leônidas Paixão Passos*

Tratamento de ilustrações *Carlos Alberto Medeiros de Moura*

Editoração eletrônica *Carlos Alberto Medeiros de Moura, Leonardo Mariano Gravina Fonseca*

1ª edição

1ª impressão (2017): 40 unidades

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Embrapa Gado de Leite

Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite (20. : 2017 : Juiz de Fora, MG).

Anais do XX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite / Editor técnico, Leônidas Paixão Passos. – Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2017.

(Embrapa Gado de Leite. Documentos, 211).

ISSN 1516-7453

1. Agropecuária. 2. Pesquisa. 3. Resultados. I. Passos, Leônidas Paixão. II. Título. III. Série.

CDD 630.72

Autor

Leônidas Paixão Passos

Engenheiro-agrônomo, pós-doutorado em Molecular Biology, University of Arizona, USA, pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Apresentação

A Embrapa Gado de Leite, sob a coordenação do Apoio ao Estudante, do Departamento de Gestão de Pessoas (DGP) da Embrapa, tem ativamente conduzido o Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), congregando, ao final desses treinamentos, orientadores, bolsistas e membros de nossa comunidade técnico-científica em oficinas de trabalho anuais, provendo discussões objetivas, o contraditório científico, a revisão pelos pares, e a antevisão de estratégias futuras.

Este documento reúne os trabalhos apresentados no XX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite, realizado de 27 a 28 de julho de 2017, no âmbito do programa PIBIC CNPq do período 2016-2017. Foram apresentados 23 trabalhos, cobrindo áreas da ciência básica à ciência aplicada, tanto na área animal quanto na vegetal. Todos de imediata relevância para o agronegócio do leite. O evento reuniu 70 participantes, com trabalhos em pesquisa cooperativa envolvendo 17 instituições brasileiras. Esses números evidenciam a relevância do programa PIBIC para a comunidade de pesquisa em gado de leite e para os jovens cientistas em formação. Apresentações orais com qualidade cada vez melhor, ocasionando uma visível intensificação de calorosas discussões científicas no decorrer do evento.

Somos gratos ao CNPq pela oportunidade em podermos, de forma já tradicional, contribuir para o desenvolvimento de futuras gerações de profissionais em pesquisa e desenvolvimento, em benefício da atividade leiteira do Brasil.

É salutar comprovar, pela vigésima vez, o pleno cumprimento do objetivo central do PIBIC, de incentivar o pensamento científico e a iniciação à pesquisa de estudantes de graduação do ensino superior, contribuindo assim para a formação científica desses futuros profissionais.

Paulo do Carmo Martins
Chefe-geral da Embrapa Gado de Leite

Características morfológicas e estruturais de cultivares de *Panicum maximum*, submetidos ao pastejo de vacas leiteiras¹

Mateus José Inácio de Abreu², Marina Aparecida Lima³, Cássia Aparecida Soares Freitas³, Igor Lima Bretas⁴, Tatiele Nicho Santos⁵, Carlos Augusto de Miranda Gomide⁶, Domingos Sávio Campos Paciullo^{5,7}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto "Avaliação de Genótipos de *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum* para produção de leite", liderado por Carlos Augusto de Miranda Gomide.

²Graduando em Zootecnia – IF Sudeste – MG – Campus Rio Pomba. Bolsista PIBIC CNPq. E-mail: mateusabueu19@gmail.com

³Doutoranda em Zootecnia – UFV/Viçosa – MG. Bolsista do CNPq. E-mail:

⁴Mestrando em Zootecnia – UFV/Viçosa – MG. e-mail:

⁵Graduanda em Agronomia – IFRO – RO – Campus Colorado do Oeste.

⁶Pesquisador, Embrapa Gado de Leite/Juiz de Fora – MG. Bolsista de produtividade em desenvolvimento tecnológico e extensão inovadora do CNPq. E-mail: carlos.gomide@embrapa.br; domingos.paciullo@embrapa.br

⁷Orientador

Resumo: A morfogênese das plantas pode ser definida como a dinâmica de formação e expansão da forma da planta no espaço. O estudo das características morfológicas de uma forrageira é de grande importância na determinação de metas de manejo. O presente estudo foi conduzido na Embrapa Gado de leite com o objetivo de avaliar as características morfológicas e estruturais dos cultivares de *Panicum maximum* BRS Zuri e BRS Quênia, sob a influência de duas estações do ano (verão e outono). Para o estudo de morfogênese utilizou-se o delineamento de blocos casualizados, no arranjo de parcelas subdivididas, onde as parcelas eram as cultivares e as subparcelas as estações, com três repetições. As características morfológicas e estruturais foram influenciadas somente pela estação do ano, com exceção da taxa de alongamento de colmo e da densidade de perfilhos que variaram conforme a interação cultivar x estação do ano. As taxas de alongamento, aparecimento e senescência foliares, além do comprimento de folhas foram maiores no verão do que no outono. A taxa de alongamento de colmos foi maior para o Quênia do que para o Zuri e variou com a estação somente para a cultivar Quênia, com maior valor no verão, quando comparado ao outono. O Quênia apresentou maior densidade de perfilhos do que o Zuri, independentemente da estação do ano. Devido ao seu florescimento precoce, estratégias de manejo que visem à eliminação do meristema apical no pasto de BRS Quênia, em meados do verão, podem conter o acentuado alongamento do colmo e favorecer uma rápida renovação de perfilhos.

Palavras-chave: alongamento foliar, aparecimento foliar, comprimento foliar, perfilhamento, senescência

Morphogenetic and structural traits of Panicum maximum cultivars, submitted to grazing of dairy cows

Abstract: Plant morphogenesis can be defined as the dynamics of formation and expansion of the plant form in space. The study of the morphogenetic traits of forage is important for determination of management goals. The present study was conducted at the Embrapa Dairy Cattle with the objective of evaluating the morphogenetic and structural characteristics of the *Panicum maximum* BRS Zuri and BRS Quênia cultivars in two seasons of the year (summer and autumn). The experimental design was a randomized block, in a 2 x 2 factorial scheme (two cultivars x two seasons), with three repetitions. The morphogenetic and structural traits were influenced only by the season of the year, with the exception of the stem elongation rate and the tiller density that varied according to the cultivar x season interaction. The leaf elongation, leaf appearance and leaf senescence rates, and leaf length were higher in the summer than in autumn. The stem elongation rate was higher for BRS Quênia than for BRS Zuri and varied with

the seasons only for BRS Quênia, with higher value in the summer when compared to the autumn. BRS Quênia had a higher tiller density than the BRS Zuri, regardless of the season. Strategies of pasture management can be used to eliminate apical meristem in the BRS Quênia, in the mid-summer, and so reduce the strong stem elongation and favor the fast tiller turnover.

Keywords: leaf appearance, leaf elongation, leaf length, tillering, senescence

Introdução

A produção do pasto é resultado da contínua emissão de folhas e perfilhos, sendo estes, influenciados pelo corte ou pastejo. Estudos detalhados sobre os componentes responsáveis pela produção de forragem são importantes no entendimento da renovação da área foliar após a desfolhação (PEDREIRA et al., 2001). As avaliações da morfogênese da planta possibilita entender as modificações morfológicas da planta durante o tempo, definindo sua produtividade (NASCIMENTO JÚNIOR et al., 2002).

As informações da dinâmica de crescimento dos perfilhos são especialmente importantes para novos materiais forrageiros. A espécie *Panicum maximum* é caracterizada por sua elevada produção e boa qualidade da forragem (JANK et al., 2010). As cultivares BRS Zuri e BRS Quênia, disponibilizadas recentemente, apresentam características favoráveis à produção animal. Entretanto, pouco se conhece sobre suas características de crescimento, quando mantidas sob pastejo. Objetivou-se com esse estudo avaliar as características morfológicas e estruturais de *Panicum maximum* cvs. Zuri e Quênia, sob a influência das estações do ano.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Embrapa Gado de Leite, município de Coronel Pacheco, Minas Gerais. Foram utilizadas pastagens de *Panicum maximum* BRS Zuri e BRS Quênia, divididas em piquetes de 830 m², manejadas pelo método de lotação rotacionada. Para o estudo de morfogênese utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, no arranjo de parcelas subdivididas, onde as parcelas eram as cultivares e as subparcelas as estações, com três repetições. Foram avaliadas as variáveis morfológicas e estruturais no verão (janeiro-fevereiro) e outono (abril-maio). Foram marcados três perfilhos por touceira e duas touceiras por repetição. O comprimento da lâmina foliar expandida foi medido da sua lígula até o ápice, o comprimento da lâmina emergente medido da lígula da última folha expandida até seu ápice, até que sua lígula se tornasse visível e o comprimento de colmo medido da base do solo até a lígula da última folha expandida. A data de aparecimento da folha foi definida quando sua lígula se tornasse visível e data de morte quando seu comprimento se encontrava com mais de 50% necrosado. O tempo de vida das folhas foi dado como número de dias para sua completa expansão até atingir mais de 50% do seu comprimento necrosado. As avaliações foram feitas semanalmente durante o período de descanso do piquete, possibilitando calcular as taxas de alongamento, aparecimento e senescência das folhas por perfilho. Foi possível também calcular o comprimento médio das folhas e o número de folhas totais (NFT) e vivas (NFV) por perfilho. A taxa de alongamento foliar (TalF) foi calculado por meio da diferença entre o comprimento final e inicial dividido pelo período de descanso. A taxa de senescência foliar (TseF) foi determinada a partir da diferença entre o comprimento verde inicial da lâmina foliar e o final, dividido pelo período de descanso. A taxa de aparecimento foliar (TapF) foi calculada dividindo o número de folhas totalmente expandidas surgidas pelo período de descanso e o filocrono, que representa o inverso da taxa de aparecimento, foi calculado dividindo o período de descanso pelo número de folhas expandidas surgidas no perfilho. Os dados foram submetidos à análise de variância, com auxílio do programa estatístico SISVAR, para verificar a influência da cultivar, estações e suas interações. Para comparação de médias foi utilizado o teste tukey a 10% de probabilidade.

Resultados e Discussão

As características morfológicas e estruturais foram influenciadas somente pelas estações do ano (Tabela 1), exceto a taxa de alongamento de colmo, que variou ($P < 0,01$) com a interação cultivar x estação do ano (Tabela 2). As TalF e TapF foram maiores ($P < 0,01$) no verão do que no outono, enquanto o filocrono foi inverso, com maior no outono do que no verão. Segundo Morales et al. (1997), a baixa disponibilidade de água no solo pode reduzir a emissão de

folhas novas, o que poderia explicar a menor TapF e o maior filocrono no outono, quando são observadas menores precipitações pluviométricas. As baixas temperaturas e luminosidade também são fatores limitantes do crescimento, tendo relação com os baixos valores do outono.

Para senescência foliar, os valores do verão superaram ($P < 0,10$) os do outono em 257%. No verão, as folhas completaram sua expansão mais rápida, mas experimentaram uma aceleração no metabolismo e na senescência foliar. A vida útil da folha foi maior ($P < 0,01$) no outono do que no verão, refletindo a menor TseF nesta estação.

A TalC foi influenciada ($P < 0,01$) pela interação cultivar x estação do ano (Tabela 2). A TalC do Zuri não diferiu entre as estações, porém, a do Quênia foi maior no verão do que no outono. O Quênia apresentou maior TalC no verão, mas menor no outono, quando comparado ao Zuri. O elevado alongamento de colmo do Quênia, no verão, foi devido à sua precocidade de florescimento em relação ao Zuri, caracterizada pelo aparecimento de perfilhos reprodutivos nos meses de fevereiro e março, o que resultou no acentuado alongamento dos colmos para emissão dos pendões florais. No outono, o Quênia reduziu seu alongamento de colmos em 96,3%. Essa significativa redução pode ser explicada pela intensa renovação de perfilhos basais após o florescimento. Os resultados evidenciam que neste período, o pasto priorizou a emissão de novos perfilhos, em detrimento do crescimento dos perfilhos existentes.

O comprimento médio das folhas foi maior ($P < 0,01$) no verão do que no outono, o que está associado à maior TalF nesta estação. O NFT e NFV por perfilho foi maior ($P < 0,05$) no outono do que no verão, o que está ligado à menor TseF e à maior vida útil das folhas.

Tabela 1. Características morfogênicas e estruturais de pastos de *Panicum maximum* cvs. Zuri e Quênia, em duas estações do ano.

Característica	Estação do ano		P-value ¹	CV (%) ²
	Verão	Outono		
Alongamento foliar (mm/perfilho/dia)	104,4	58,3	***	7,33
Aparecimento foliar (folha/perfilho/dia)	0,121	0,087	***	11,34
Filocrono (dias/folha)	9,2	13,1	***	13,59
Senescência foliar (mm/perfilho/dia)	1,86	0,52	*	88,66
Vida útil da folha (dias)	47,9	72,2	***	8,85
Comprimento da folha (cm)	84,9	63,3	***	6,76
Número total de folhas/perfilho	5,82	6,24	**	4,41
Número de folhas vivas/perfilho	5,62	6,21	***	4,31

¹Probabilidade de efeito significativo devido à estação (* $P < 0,10$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,01$).

²Coeficiente de variação.

A densidade populacional de perfilhos foi influenciada pela interação cultivar x estação do ano (Tabela 2). Para o Zuri não houve efeito da estação sobre a densidade de perfilhos. Entretanto, variações ocorreram para o Quênia, que apresentou maior densidade no outono. Comparando as cultivares nas estações, nota-se que o Quênia apresentou maior densidade que o do Zuri, nas duas estações (32,8% no verão e 98,4% no outono). O intenso perfilhamento do Quênia no outono foi posterior ao florescimento em meados do verão. O estágio final de vida dos perfilhos reprodutivos diminuiu a dominância apical e estimulou a formação de novos perfilhos basilares, o que explica o elevado número de perfilhos no outono.

Tabela 2. Taxa de alongamento de colmo (TalC) e densidade de perfilhos em pastos de *Panicum maximum* cvs. Zuri e Quênia, em duas estações do ano.

Estação	Cultivar		P-value ¹	CV (%) ²
	Zuri	Quênia		
	Taxa de alongamento do colmo ³ (mm/perfilho/dia)			
Verão	2,95 ^{Ab}	7,10 ^{Aa}	***	29,96
Outono	2,39 ^{Aa}	0,26 ^{Bb}		
	Densidade populacional de perfilhos (m ²)			
Verão	274 ^{Ab}	364 ^{Aa}	***	10,01
Outono	263 ^{Ab}	522 ^{Ba}		

A, B, a, b Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, dentro de cada característica, são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,10). ¹Efeito significativo da interação estação x cultivar (***P<0,01). ²Coefficiente de variação.

Conclusões

As características morfogênicas e estruturais são fortemente influenciadas pelas estações.

Os dois cultivares possui desenvolvimento semelhante, porém, o BRS Quênia se destaca pelo maior alongamento de colmo no verão e mais intenso perfilhamento no outono.

Estratégias de manejo que visam à eliminação do meristema apical no pasto de BRS Quênia, em meados do verão, podem conter o acentuado alongamento do colmo e favorecer uma rápida renovação de perfilhos.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio financeiro.

Referências

MORALES, A.; NABINGER, C.; ROSA, L.M.; MARASCHIN, G.E. Efeito da limitação hídrica sobre a morfogênese e repartição da biomassa de *Lotus corniculatus* L. cv. São Gabriel. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p.124-126.

JANK, L. et al. *Panicum maximum*. In: FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A. (Ed.). **Plantas Forrageiras**. Viçosa, MG: UFV, 2010. p. 166-196.

NASCIMENTO JÚNIOR, D.; GARCEZ NETO, A.F.; BARBOSA, R.A. Fundamentos para o manejo de pastagens: evolução e atualidades. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 1., 2002, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2002. p.149-196.

PEDREIRA, C. G. S.; MELLO, A. C. L.; OTANI, L. O processo de produção de forragem em pastagem. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (Piracicaba, SP). **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: Fealq, 2001. p. 772-807.

Caracterização da variação termorregulatória em vacas da raça Girolando¹

Pedro Manoel de Oliveira Netto², Luciano de Rezende Carvalheira, Jessica Fernanda da Silva Souza², Carolina Capobianco Romano Quintão³, Luiz Gustavo Bruno Siqueira⁴, Luiz Sergio de Almeida Camargo^{4,5}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto "Identificação de marcadores moleculares de conforto térmico e estudo de estratégias para aumento do desempenho reprodutivo em gado de leite Girolando", liderado por Luiz Sergio de Almeida Camargo. Parte da tese de doutorado do segundo autor.

²Doutorando UFMG, Belo Horizonte/MG

³Analista, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora/MG

⁴Pesquisador, Embrapa Gado de Leite

⁵Orientador. E-mail: luiz.camargo@embrapa.br

Resumo: Uma das principais implicações do estresse térmico na cadeia produtiva do leite é a redução da fertilidade. Para fazer frente aos efeitos do calor excessivo sob a fertilidade e, conseqüente produtividade estão sendo avaliadas vacas Girolando sob condições de índice temperatura e umidade (ITU) elevadas com objetivo de caracterizar a variação de temperatura vaginal durante período de estresse térmico. Temperatura vaginal de vacas em lactação, vacas secas e novilhas foi coletada a cada meia hora com auxílio de mini *datalogger* (iButton) acoplado a dispositivo intravaginal, por período de 36 à 48h. Observou-se que o pico de ITU em alguns dias de coleta atingiu o valor de 85 entre 15 e 16h, considerado de estresse moderado a severo para vacas de origem europeia. Alguns animais (n=3) apresentaram temperatura vaginal acima de 39,5 °C quando o ITU variou de 78 a 85, com um desses animais alcançando 40,3 °C de temperatura vaginal. Entretanto, em outros animais a temperatura vaginal permaneceu abaixo de 39,5 °C. Conclui-se que animais da raça Girolando apresentam variação na temperatura vaginal em função do valor de ITU no ambiente. Tais informações fenotípicas podem ser úteis em estudos para se identificar marcadores moleculares para termotolerância em vacas Girolando.

Palavras-chave: Estres térmico, bovinos, termoregulação

Characterization of thermoregulatory variation in cows of Girolando breed

Abstract: One of the main implications of thermal stress in the milk production chain is the reduction of fertility. In order to cope with the effects of heat stress on fertility and consequent productivity Girolando cows are being evaluated under high temperature and humidity index (THI) conditions in order to characterize the temperature variation during a period of heat stress. Vaginal temperature of lactating cows, dry cows and heifers was collected every half hour with the aid of a mini datalogger (iButton) coupled to an intravaginal device, for a period of 36 to 48 hours. It was observed that the peak of THI in some days of collection reached the value of 85 between 15 and 16h, considered of moderate to severe stress for cows of European origin. Some animals presented vaginal temperature above 39.5 °C when UI ranged from 78 to 85, with one of them reaching 40.3 °C vaginal temperature. However, in other animals the vaginal temperature remained below 39.5 °C. In conclusion, Girolando animals display variation in vaginal temperature as a function of the THI value in the environment. Such phenotypic information may be useful in studies to identify molecular markers for thermotolerance in Girolando cows.

Keywords: Heat stress, bovine, thermoregulation

Introdução

O consumo de produtos lácteos tem crescido, principalmente, em países em desenvolvimento (SIQUEIRA et al., 2012) e que estão localizados nas regiões mais quentes do planeta. Entretanto, apesar da carne e do leite serem os principais alimentos, de origem animal, do

agronegócio brasileiro e estarem entre os principais itens da alimentação da população mundial, sua produção é fortemente influenciada pelas condições ambientais.

O constante aquecimento climático poderá levar os animais à uma condição de estresse térmico, impactando negativamente a produtividade dos rebanhos bovinos (THORNTON et al., 2009) Uma das principais implicações do estresse térmico na cadeia produtiva do leite é a redução da fertilidade, resultando em baixas taxas de concepção e, conseqüentemente, em mais vacas vazias por mais tempo. De fato, em regiões de clima tropical e subtropical, o verão está associado à redução da fertilidade nesses animais (SCHÜLLER et al., 2014). No Brasil, 70% do rebanho bovino leiteiro é composto por animais cruzados entre taurinos e zebuínos, sendo o Girolando, oriundo do cruzamento entre Holandês e Gir (HxG) o mais utilizado (BORGES et al., 2015). A seleção de indivíduos termo resistentes é uma ferramenta em potencial para reduzir os efeitos do estresse térmico na bovinocultura leiteira (HANSEN, 2013).

Para fazer frente aos efeitos do calor excessivo sob a fertilidade e, conseqüente produtividade, e que podem ser potencializados por possíveis mudanças climáticas, o projeto se propõe a avaliar a variação da temperatura corpórea de vacas Girolando sob condições de índices de temperatura e umidade (ITU) elevadas afim de identificar indivíduos termo resistentes e que possam, em estudo posterior, possuir polimorfismos que estejam associados a melhor termorregulação. Portanto o objetivo deste estudo inicial é caracterizar a variação de temperatura vaginal em fêmeas bovinas do cruzamento Girolando durante período de estresse térmico

Material e Métodos

Foram utilizados animais da raça Girolando e 1/2 sangue (F1) Gir x Holandes. Temperatura vaginal de vacas em lactação, vacas secas e novilhas foi coletada a cada meia hora com auxílio de mini *datalogger* (iButton) acoplado a dispositivo intravaginal, por período de 36 à 48h. Para caracterizar o ambiente de estresse térmico, a temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas no mesmo momento que a temperatura vaginal por meio de *datalogger* ambiental (ASKO AK 174, Asko Produtos Eletrônicos Ltda, RS, Brasil). O Índice de Temperatura e Umidade (ITU) foi calculado usando a formula $ITU = (1,8 \times T^{\circ}amb + 32) - (0,55 - 0,0055 \times Umid) \times (1,8 \times T^{\circ}amb - 26)$; onde $T^{\circ}amb$ é temperatura ambiental e Umid a umidade relativa do ar).

Resultados e Discussão

Temperatura vaginal foram coletados de cerca de 800 fêmeas bovinas mestiças Girolando (Holandês x Gir) de diferentes graus de sangue localizados no Campo Experimental Jose Henrique Bruschi (CEJHB), Cel Pacheco, Campo Experimental Santa Monica (CESM), Valença, da Embrapa Gado de Leite e na Fazenda Santa Luzia, Passos, MG. (Os dados foram coletados nos meses de janeiro a março de 2016 e de outubro a março de 2017). Para evitar confundimentos sobre a temperatura vaginal, animais que apresentaram histórico de cio, processo inflamatório (ex: mastite, infecção uterina e lesões podais) ou que estavam com menos de 30 dias pós-parto quando realizada a aferição da temperatura, tiveram seus dados excluídos do experimento.

A Figura 1 ilustra a variação de temperatura vaginal de nove vacas e do ITU ao longo de 24 h do dia 06/01/2017 no CEJHB. Observa-se que neste dia o pico de ITU atingiu o valor de 85 entre 15 e 16h, considerado de estresse moderado a severo para vacas de origem europeia (Armstrong, 1994). Alguns animais (n=3, animais #1696, 2607 e 3695) apresentaram temperatura vaginal acima de 39,5 °C quando o ITU variou de 78 a 85, com um desses animais (#1696) alcançando 40,3 °C de temperatura vaginal. Entretanto, em outros animais a temperatura vaginal permaneceu abaixo de 39,5 °C.

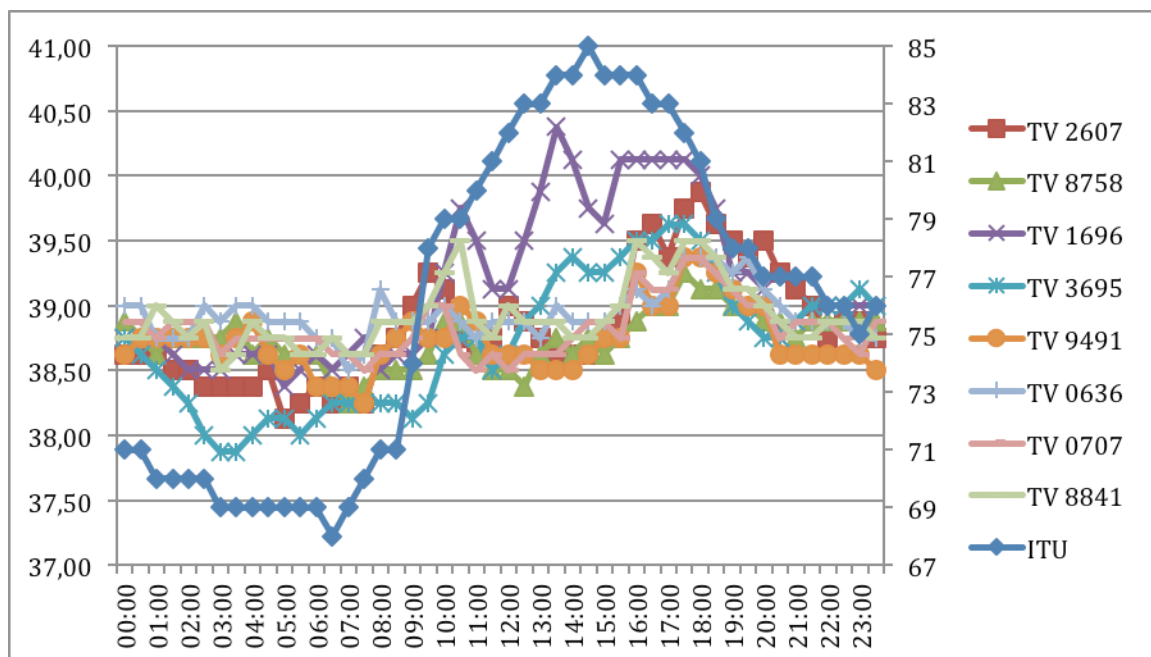


Figura 1. Variação da temperatura vaginal em função do Índice de Temperatura e Umidade (ITU) do ambiente por período de 24h no dia 06/01/2017 no CEJHB. TV = temperatura vaginal.

Observa-se que existe variação na temperatura vaginal entre animais em função do ITU ao longo do dia. Dados de temperatura vaginal de mais animais ainda estão sendo coletado para aumentar a base de informações. Espera-se que a variação desse fenótipo esteja associado a polimorfismo genômico que, depois de identificado e caracterizado, possa ser utilizado para a seleção genômica de animais termotolerantes.

Conclusão

Animais da raça Girolando apresentam variação na temperatura vaginal em função do valor de ITU no ambiente. A partir da agregação de mais resultados do projeto principal espera-se que sejam identificados marcadores moleculares para termotolerância, com reflexo no potencial de fertilidade do oócito, que possam ser usados para seleção genômica em vacas Girolando.

Agradecimentos

Apoio financeiro: Fapemig e CNPq.

Referências

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. *Journal Dairy AScience*, v. 77, p. 2044-2050, 1994.

BORGES, Á. M.; MARTINS, T. M.; NUNES, P. P.; RUAS, J. R. M. Reprodução de vacas mestiças: potencialidade e desafios. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.39, p.155-163, 2015

HANSEN, P. J. **Genetic Control of Heat Stress in Dairy Cattle**. Proceedings 49th Florida Dairy Production Conference, Gainesville, April 10, 2013.

SCHÜLLER, L. K.; BURFEIND, O.; HEUWIESER, W. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology*, v.81, p.1050–1057, 2014.

SIQUEIRA, K. B.; PINHO, M. C.; MERCÊS, E. D. S. O consumo de leite em números. **Panorama do Leite**, v. 65, p. 5-7, 2012.

THORNTON, P.; VAN DE STEEG, J.; NOTENBAERT, A.; HERRERO, M. The impacts of climate change on livestock and livestock systems in developing countries: A review of what we know and what we need to know. **Agricultural Systems**, v. 101, n. 3, p. 113-127, 2009. ISSN 0308-521X.

Caracterização das injúrias ocasionadas por *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) em *Brachiaria ruziziensis* (Germ & Evrard)¹

Brunno dos Santos Rodrigues², Roberta Alvarenga³, Alexander Machado Auad⁴

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio de projeto da Embrapa e apresentado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico - Brasil

²Graduando em Ciências Biológicas – CES/JF. Bolsista da Embrapa. E-mail: brunnosrodrigues@hotmail.com

³Bolsista de doutorado do CNPq. E-mail: r.alvarenga.ufla@gmail.com

⁴Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: alexander.auad@embrapa.br

Resumo: O objetivo do estudo foi identificar a translocação de toxinas injetadas por adultos da cigarrinha-das-pastagens em função do local de alimentação; além de determinar as injúrias ocasionadas em *Brachiaria ruziziensis* em função da densidade e do tempo de exposição do inseto praga. Para tal, foram utilizadas 15 plantas de *B. ruziziensis*, as quais foram expostas às cigarrinhas para a alimentação na região foliar (limbo apical, mediano e basal) e posteriormente, avaliou-se a progressão das injúrias. Para a avaliação de injúrias em função do tempo e densidade de insetos, utilizou-se delineamento experimental em blocos casualizados, consistindo em quatro densidades de insetos e cinco dias de avaliações em um total de cinco blocos. Verificou-se que a ponta e o meio das folhas foram as partes que apresentaram maior percentual de injúria independentemente do local de alimentação das cigarrinhas no limbo foliar, denotando que a toxina é capaz de translocar. Observou-se um aumento progressivo na porcentagem de dano foliar ao decorrer dos dias e aumento das densidades de insetos, onde as densidades de 10 e 15 cigarrinhas não diferiram na porcentagem de folhas injuriadas, assim como não houve diferença de folhas injuriadas entre 15 e 20 dias.

Palavras-chave: inseto-praga, danos, cigarrinha das pastagens

Characterization of the injuries caused by *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) on *Brachiaria ruziziensis* (Germ & Evrard)

Abstract: The aim of this study was identify the translocation of toxins injected by adults spittlebugs in function of feeding place and determine the damages in *Brachiaria ruziziensis* in function of insect density and exposure time. In this regard, 15 plants of *B. ruziziensis*, which were exposed to the spittlebugs for feeding on the leaf area (apical, medium and basal limbus), were used and subsequently the plants were monitored to verify the progression of damages. For the evaluation of injuries in function of time and insect density were used four insect densities and five days of evaluation in five blocks, totalizing 25 experimental units. It was found that the apical and the medium areas of leaves were the areas with the higher percentage of damage regardless of the feeding place of the spittlebugs and, the toxin is able to translocate. There was a progressive increase in the percentage of leaf damage over the days and increased insect densities, where the densities of 10 and 15 spittlebugs did not differ in the percentage of damaged leaves, and there were no difference in damaged leaves between 15 and 20 days.

Keywords: insect pests, damage, spittlebugs

Introdução

Dentre o cultivo de braquiárias, evidencia-se a espécie *Brachiaria ruziziensis* (R. Germ & Evrard), a qual se sobressai por sua qualidade, apresentando maior palatabilidade e produtividade (ARAUCÁRIA SEMENTES, 2010). Por outro lado, esta não é recomendada em locais que apresentam históricos de problemas com cigarrinhas das pastagens, por ser considerada suscetível a esse inseto praga.

A forma adulta da cigarrinha-das-pastagens suga a seiva das folhas e brotações e injeta toxinas, causando fitotoxicidade, necrosando os tecidos foliares e, conseqüentemente, interferindo na síntese da clorofila (VALÉRIO et al., 1988; HEWITT, 1988; DINARDO-MIRANDA, 2005).

Estes sintomas se desenvolvem na folha acima e abaixo do local de alimentação, mas o dano é estritamente confinado à lâmina foliar (VALÉRIO & NAKANO, 1992). Se as injúrias produzidas pelos adultos podem continuar desenvolvendo na ausência do inseto e como a toxina transloca na planta, ainda são questões não muito claras.

Desta forma, objetivou-se identificar se há translocamento das toxinas injetadas por adultos de *M. spectabilis* em função do local de alimentação, assim como determinar as injúria em *B. ruziensi*s em função da densidade do inseto ao longo do tempo.

Material e Métodos

Adultos de *M. spectabilis* foram coletados no campo experimental da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco, Minas Gerais, transferidos para o Laboratório de Entomologia e alojados em gaiolas de acrílico contendo uma planta de *Pennisetum purpureum* Schum cvs. Roxo de Botucatu, para alimentação.

Para verificar se houve um translocamento da injúria, e qual parte do limbo foliar é mais danificada, foram utilizadas 15 plantas de *B. ruziensi*s cultivadas em vasos com capacidade de 500 mL. Em cada planta, as cigarrinhas-das-pastagens, independentemente de sexo ou idade, foram permitidas se alimentar à vontade no limbo foliar apical, mediano e basal. Posteriormente, as plantas onde as cigarrinhas se alimentaram, foram mantidas em casa de vegetação, e registrou-se o início e a progressão das injúrias em função do local de alimentação.

Na caracterização do local da injúria, foi dado uma nota relativa a presença ou não da injúria em cada parte do limbo foliar (apical, mediano e basal), onde a nota 0 (zero) foi dada para as partes do limbo que não apresentavam nenhuma injúria e nota 1 (um) para as partes que apresentavam injúrias.

Para avaliação das injúrias em função do tempo e densidade de insetos, o delineamento experimental foi em blocos casualizados e em esquema fatorial, envolvendo quatro densidades de insetos (0, 5, 10 e 15) e cinco datas de avaliações (1, 5, 10, 15 e 20 dias após infestação dos insetos) em um total de cinco blocos, totalizando 20 plantas avaliadas.

Cada unidade experimental foi infestada com a respectiva densidade de adultos de *M. spectabilis* por 48 horas, sendo repostos os insetos mortos, mantendo assim a densidade referente a cada repetição. Após esse período, os insetos foram retirados da planta e iniciou-se o período de avaliação dos danos, sendo efetuadas após 1, 5, 10, 15 e 20 dias da retirada dos insetos da planta, onde eram contabilizadas o número de folhas totais e o número de folhas injuriadas.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0.05$). As análises foram feitas no programa SISVAR 5.1 (FERREIRA, 2008).

Resultados e Discussão

Translocação da injúria

Observou-se diferenças significativas nas notas de danos entre os locais da injúria, onde a parte apical e mediana do limbo foliar, independentemente do local de alimentação das cigarrinhas-das-pastagens, foram as mais injuriadas. Foi possível observar que a toxina transloca no limbo foliar, já que as partes mais injuriadas das folhas foram a ponta e o meio, mesmo estas se alimentando na porção basal da folha (Tabela 1). Estes resultados corroboram os de Valério (1985), que registrou que a translocação de toxinas ocorre, predominantemente, no sentido apical das folhas, onde no geral começam a secar a partir do ápice em direção à porção basal.

Avaliado a nota de dano nos locais de alimentação, constatou-se que não houve diferença significativa nos valores de local da injúria em função do local de alimentação. Quando os insetos foram expostos para se alimentar na porção apical, mediana e basal, separadamente, houve uma predominância dos danos na ponta e meio do limbo foliar, mostrando que independentemente do local de alimentação as injúrias se manifestaram de forma igualitária nessas áreas (Tabela 1).

Em estudos dos danos da cigarrinha *Aeneolamia varia sccharina* em cana-de-açúcar, Withycombe (1926) descreveu que essa predominância de danos na parte apical e mediana do limbo foliar ocorre provavelmente pelo maior suprimento de água presente na porção basal da folha, uma vez constatado um número maior de nervuras transversais maiores na base do que na porção apical da folha. Valério (1985) complementou que possivelmente, o suprimento de água

para a folha se dá de forma crescente no sentido base-ponta, e conseqüentemente os danos causados pela cigarrinha, assim como a redução de suprimento hídrico à ponta e meio da planta se manifestam de forma mais severa nessas áreas.

Quanto avaliado às lesões necróticas, observou-se que após a injeção de toxinas as lesões surgiram a partir do local onde foi fixado o aparato bucal das cigarrinhas translocando-se para o ápice foliar, resultados esses que corroboram os obtidos por Withycombe (1926) e Holmann e Peck (2002), que constataram que a injeção de toxina causa fitotoxicidade, tendo como resultado a interrupção da atividade fotossintética, levando a lesões necróticas dissipando-se longitudinalmente em direção ao ápice foliar.

Injúrias em função do tempo e densidade de insetos

Não foi constatado diferença significativa na avaliação de um dia após a retirada dos adultos de *M. spectabilis*, não havendo dano em nenhuma das densidades dos insetos, convergindo ao proposto por Valério (1985) que estabeleceram que os primeiros sinais de dano se expressam no terceiro dia após o confinamento. No 5º dia após a infestação, observou-se que nas densidades 5, 10 e 15 os valores de folhas injuriadas não diferiram estatisticamente entre si, porém foram maiores que na densidade zero (Tabela 2).

Verificou-se que no 10º e 15º dia de avaliação, as densidades com 10 e 15 cigarrinhas apresentaram danos semelhantes entre si, e foram maiores que a densidade de cinco insetos e zero insetos (Tabela 2). Após 20 dias da infestação inicial, verificou-se que as densidades 5, 10 e 15 insetos desenvolveram danos de forma igualitária chegando a apresentar três vezes mais folhas injuriadas em relação a densidade zero. Semelhantemente, testes realizados por Resende (2012) enfatizou que o aumento do número de insetos, atingindo certo limite, não produz efeitos adicionais de injúria sobre a planta.

Ao avaliar os valores totais entre as diferentes datas de avaliação, foi possível verificar que a porcentagem das folhas injuriadas aumentam progressivamente até o 10º dia e que não há diferença significativa na porcentagem de folhas injuriadas entre 15 e 20 dias, evidenciando assim o período necessário para o início das avaliações dos danos às forrageiras em 15 dias após a exposição dessas aos insetos (Tabela 2). Resultados obtidos por Valério (1985) com cigarrinhas-pastagens *Z. enteriana* em *B. decumbens*, divergiram aos propostos no presente trabalho, que estabeleceu que a manifestação plena dos sintomas ocorre após 22 dias. Uma das primeiras etapas na determinação do nível do dano é o conhecimento da causa e desenvolvimento do dano e o seu relacionamento com a densidade populacional dos insetos.

Conclusões

A translocação da toxina pelo limbo foliar, se dá no sentido ápice-base independentemente do local de alimentação. Quinze dias após a exposição de 15 indivíduos de *M. spectabilis* é adequado para estudo de forrageiras resistentes a esse inseto praga.

Agradecimentos

Agradeço a Embrapa Gado de Leite pela oportunidade de estágio e grande aprendizado.

Referências

ARAUCÁRIA SEMENTES. *Brachiaria ruziziensis*: pastagens. 2010. Disponível em: <<http://www.sementesaraucaria.com.br/ruziziensis.php>>. Acesso em 26 ago. 2016.

DINARDO-MIRANDA, L.L. **Nematóides e pragas de solo em cana-de-açúcar**. Informações Agrônomicas, v. 110, p.25-32, 2005.

FERREIRA, F. D. Sisvar: um programa para a análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

HEWITT, G. B. Grazing management as a means of regulating spittlebug (Homoptera: Cercopidae) numbers in Central Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, n. 7, p. 697-707, 1988.

HOLMANN, F.; PECK, D. C. Economic damage caused by spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in Colombia: a first approximation of impact on animal production in *Brachiaria decumbens* pastures. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 275-284, 2002.

RESENDE, T. T. et al. **Impacto do ataque de adultos de *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) sobre *Brachiaria ruzizensis***. 2012. 73 f. Tese (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

VALÉRIO, J. R. **Caracterização e avaliação do dano causado pelo adulto da cigarrinha-das pastagens *Zulia entreriana* (Berg, 1879) em *Brachiaria decumbens* Stapf. Cv. Basilisk**. 1985. 152 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

VALÉRIO, J. R.; NAKANO, O. Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p. 447-453, 1988.

_____. Sintomatologia dos danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* (Berg, 1879) (Homoptera: Cercopidae) em *Brachiaria decumbens* Stapf. **Anais Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 21, 1992.

WITHYCOMBE, C. L. Studies on the aetiology of sugar-cane froghopper blight in Trinidad. **Annals of Applied Biology**, v. 13, n. 1, p. 64-108, 1926.

Tabela 1. Média (\pm EP) da Nota de Dano (0 = ausência de dano no limbo foliar; 1 = presença de dano no limbo foliar) em plantas de *Brachiaria ruzizensis* submetidas à alimentação de *Mahanarva spectabilis*.

Local de Alimentação	Local de Injúria			
	Ponta	Meio	Base	Total
Ponta	0,87 \pm 0,09 aA	0,80 \pm 0,11 aA	0,53 \pm 0,13 aB	0,73 \pm 0,06 a
Meio	0,87 \pm 0,09 aA	0,87 \pm 0,09 aA	0,60 \pm 0,08 aB	0,78 \pm 0,06 a
Base	0,87 \pm 0,09 aA	0,80 \pm 0,11 aA	0,60 \pm 0,13 aB	0,75 \pm 0,06 a
Total	0,87 \pm 0,05 A	0,82 \pm 0,06 A	0,57 \pm 0,07 B	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula entre colunas, não diferem entre si pelo teste Scott-Knot ($p > 0.05$)

Tabela 2. Média (\pm EP) das folhas injuriadas (%) de *Brachiaria ruzizensis* em função da densidade de *Mahanarva spectabilis* e tempo (dias) após a infestação.

Densidade de <i>M. spectabilis</i>	Dias após a infestação					% Total
	1	5	10	15	20	
0	0,00 \pm 0,00 Ba	1,78 \pm 0,82 Bb	6,13 \pm 3,70 Ac	9,87 \pm 3,57 Ac	11,67 \pm 2,80 Ab	5,89 \pm 1,42 c
5	3,95 \pm 1,16 Ba	12,83 \pm 3,20 Ba	18,43 \pm 4,33 Ab	23,90 \pm 4,60 Ab	30,26 \pm 8,04 Aa	17,87 \pm 2,70 b
10	5,56 \pm 2,01 Ca	17,09 \pm 5,09 Ba	30,21 \pm 3,71 Aa	35,13 \pm 5,82 Aa	38,67 \pm 4,67 Aa	24,03 \pm 2,37 a
15	7,90 \pm 1,50 Ba	13,94 \pm 1,70 Ba	31,22 \pm 1,82 Aa	31,99 \pm 2,09 Aa	35,10 \pm 2,40 Aa	25,33 \pm 3,10 a
Total	4,35 \pm 0,92 D	11,41 \pm 1,96 C	21,50 \pm 2,85 B	25,22 \pm 2,97 A	28,92 \pm 3,31 A	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula entre colunas, não diferem entre si pelo teste Scott-Knot ($p > 0.05$).

Caracterização de Poli-*N*-Acetilglicosamina extraído de *Staphylococcus aureus* por espectroscopia Raman¹

Danielle dos Santos Cinelli Pinto², Cynthia Penoni Volpi Abreu³, Nelson Luis Gonçalves Dias de Souza⁴, Juliana Carine Gern⁵, Camila Guimarães de Almeida⁶, Luiz Fernando Cappa de Oliveira⁷, Wanessa Araujo Carvalho⁵, Patricia Vilhena Dias de Andrade⁶, Humberto de Mello Brandão^{5,9}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil: Parte do projeto: Caracterização de fatores de virulência e nanoestruturação de imunógenos de *Staphylococcus aureus* para controle da mastite bovina". CNPq403098/2013-0 / SEG nº 02.13.14.001.00.04 liderado por Humberto de Mello Brandão; Parte da dissertação de mestrado de Cynthia Penoni Volpi Abreu, financiada pela Capes, Bolsista do CNPq, Embrapa.

²Graduanda em Medicina Veterinária- UFJF/Juiz de Fora. Bolsista do CNPq. E-mail: daniellecinep@gmail.com

³Doutoranda em Medicina Veterinária - UFLA, Lavras/MG. E-mail: cynthiapenoni@yahoo.com.br

⁴Professor de Química - UFT/Tocantins. E-mail: nelson.luis@uft.edu.br

⁵Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: juliana.gern@embrapa.br, humberto.brandao@embrapa.br, wanessa.carvalho@embrapa.br

⁶Pós doutoranda - Embrapa Gado de Leite. E-mail: camilagdealmeida@gmail.com, andrade.pvd@gmail.com

⁷Professor de Química- UFJF/Juiz de Fora. E-mail: luiz.oliveira@ufjf.edu.br

⁹Orientador

Resumo: A mastite é uma das principais doenças que acomete os rebanhos leiteiros no mundo, e tem como principal agente etiológico o *Staphylococcus aureus*; bactéria recentemente classificada pela OMS como "alta prioridade" no ranqueamento mundial de P&D, por apresentar grandes ameaças à saúde humana e animal, portanto, necessita de intensas pesquisas e desenvolvimento de novos medicamentos e vacinas mais eficientes. O biofilme é um importante fator de virulência produzido por esta bactéria e tem como principal componente o poli-*N*-acetilglicosamina (PNAG). Dessa forma, este trabalho propõe o estudo por espectroscopia Raman do PNAG de *S. aureus* e sua aplicação como alternativa não destrutiva para determinação do grau de desacetilação deste polímero. A caracterização do polissacarídeo foi realizada pela espectroscopia Raman.

Palavras-chave: Biofilme, Grau de desacetilação, Mastite, Polímero, Raman, *S. Aureus*

Characterization of Poly-*N*-Acetylglucosamine extracted from *Staphylococcus aureus* by Raman spectroscopy

Abstract: Mastitis is a important disease that affect the dairy herds around the world, and its main etiological agent is *Staphylococcus aureus*. This bacteria recently classified by the WHO as a "high priority" in the ranking of the world's R&D priority, because it poses great threats to human and animal health. Thus, is needed constant research for development of new drugs and vaccines. Biofilm is an important virulence factor produced by this pathogen and its main component is poly-*N*-acetylglucosamine (PNAG). In this context, we used the spectroscopy to characterize the PNAG of *S. aureus* and to determine its degree of deacetylation.

Keywords: Biofilm, Deacetylation degree, Mastitis, Raman, *S. aureus*, Polymer

Introdução

Considerando o grupo de bactérias patogênicas para mamíferos, *Staphylococcus aureus* é classificada pela OMS como de "alta prioridade", devido à variabilidade genética, histórico de multirresistência a antibióticos e por apresentar grandes ameaças à saúde humana e animal. Esta bactéria é o principal agente etiológico causador da mastite bovina, possui alta prevalência nos

rebanhos leiteiros especializados e, devido a sua grande variabilidade genética, apresenta diversos fatores de virulência, em especial o biofilme.

Pela importância, o biofilme, tornou-se alvo de pesquisa para desenvolvimento de vacinas e de novos medicamentos para controlar infecções causadas por este patógeno. O principal componente do biofilme é um exopolissacarídeo formado por Poli-*N*-acetilglucosaminas (PNAG) que, quando parcialmente desacetilado recebe o nome de adesina polissacarídica intercelular (PIA ou PNAGd). O grau de desacetilação do PNAG é uma variável biológica que faz com que a cadeia polimérica fique parcialmente protonada em ambientes neutros e ácidos, aumentando a estabilidade do biofilme ao favorecer sua ligação a superfície bacteriana (OTTO, 2008) e com outras superfícies negativas, como células de hospedeiros e biomateriais (STOODLEY et al., 2004). Assim, é importante determinar o grau de desacetilação da cadeia polimérica do PNAG/PIA de cada estirpe bacteriana, para propor sua aplicação biotecnológica, ou mesmo, para realizar estudos de imunologia, patogenicidade e resistência antimicrobiana associados ao *S. aureus*.

A espectroscopia Raman, técnica baseada no fenômeno de espalhamento de luz, cujo espectro final pode ser investigado pelo exame das frequências relativas à radiação espalhada pelos grupos funcionais presentes nas estruturas químicas, vem sendo bastante utilizada na caracterização deste tipo de amostras (FARIA et al., 1995). Quando comparada com outras técnicas de quantificação do grau de desacetilação (RMN ou titulação) esta é vantajosa, por não ser destrutiva, por obter rápida aquisição de dados, por possibilitar análises micrométricas e necessitar de pouco ou nenhum tratamento prévio da amostra a ser analisada (ASHTON et al., 2011).

Neste contexto, o presente trabalho propõe o estudo por espectroscopia vibracional do PNAG de *S. aureus* e sua aplicação como alternativa não-destrutiva para determinação do grau de desacetilação deste polímero.

Material e Métodos

Cultivo de bactérias: Foi utilizada a estirpe 2309 de *S. aureus* isolada de mastite bovina, pertencente a Coleção de Microrganismos de Interesse da Agroindústria e Pecuária, da Embrapa Gado de Leite, sediada em Juiz de Fora, Minas Gerais. O cultivo foi realizado em ágar BHI em placas descartáveis para o crescimento bacteriano por 24 horas a 37 °C em estufa.

Produção, extração e purificação do exopolissacarídeo: O inóculo foi produzido a partir de uma alçada da cepa de interesse em caldo TSB e armazenadas numa estufa a 35° ± 2 °C/72 horas para o crescimento bacteriano e formação do biofilme. Após remoção mecânica do biofilme com pérolas de vidro foram adicionados solução de NaOH 1M. A amostra foi incubada à 20°/3 horas e depois centrifugada, e o sobrenadante dialisado por 24 horas em membrana MWCO 12-14KDa. Após a diálise do material, adicionou-se ácido tricloroacético, incubou-se por 30 min e centrifugou. Ao sobrenadante foi adicionado etanol e condicionado à 4 °C/24 horas e centrifugado. A mistura foi resfriada até 10 °C, e depois o sobrenadante foi removido. O corpo de fundo foi ressuspenso em H₂O ultrapura e submetido a diálise por 24 horas. O material dialisado foi filtrado em membrana de nylon 0,22 µm.

Desacetilação do polímero: Para remover os substituintes ligados ao nitrogênio (N₂) o polímero purificado foi dissolvido em NaOH 5N e incubado sob ambiente de N₂ durante 20 horas a 37 °C. A mistura foi resfriada até 10 °C em banho de gelo e neutralizada por adição lenta de HCl 5N, também em gelo. O material polimérico foi concentrado em membrana de diálise durante três dias a 4 °C e liofilizado.

Espectroscopia Raman: Foram realizados espectros do PNAG nativo e do PNAG desacetilado (PIA) quimicamente. As medições de Raman foram realizadas com um espectrômetro Bruker RFS 100, laser Nd+3/YAG operando a 1064 nm, com detector InGaAs. Os espectros foram adquiridos com resolução de 4cm⁻¹, média de 2000 varreduras e potência de laser de 60Mw. O grau de desacetilação foi calculado segundo (ZAJAC et al, 2015; MANSUR et al, 2015).

Resultados e Discussão

Ao analisar o espectro Raman do PNAG nativo (Figura 1) verificou-se a presença da banda em 1381 cm⁻¹, característica do estiramento simétrico do grupamento COO-, presente na estrutura dos polissacarídeos. Além desta, notaram-se as bandas atribuídas aos modos vibracionais, d(CH₂), d(CH), n(C-O)/n(C-C)/d(C-OH), n(O-CH₃) e n(C-O-C) da ligação glicosídica,

presentes na estrutura química dos polissacarídeos (IVLEVA et al, 2009). Por sua vez, no PNAG nativo também pôde-se observar a presença de uma banda característica de polissacarídeos nitrogenados em 288 cm^{-1} , atribuída ao modo vibracional $d(\text{C-NH-C})/g(\text{OH})$. Notou-se ainda, bandas em 748 , 687 e 434 cm^{-1} atribuídas respectivamente aos modos $d(\text{CH}_2)$, $d(\text{COO}^-)$ e $d(\text{C-C-O})/d(\text{C-C-C})$ presentes na estrutura química do anel glicosídico (ALMEIDA et al, 2010). A presença de diferentes bandas atribuídas a mesma substância é explicada pelas diferentes interações dos componentes da amostra (IVLEVA et al, 2009).

Para demonstrar que a técnica de espectroscopia Raman pode ser utilizada para avaliar o grau de desacetilação do PNAG nativo, foi desacetilado quimicamente o mesmo PNAG nativo (PNAGd) extraído da estirpe 2309. No espectro Raman do PNAGd, diferentemente do espectro do PNAG nativo, há a presença de uma banda intensa em 1081 cm^{-1} . Esta banda é atribuída aos modos vibracionais $n(\text{C-O-C})/n(\text{C-OH})/n(\text{C-C})$ (RAMYA et al., 2010). Esse fato indica que o processo de desacetilação altera tanto os modos vibracionais relacionados ao grupamento amina, quanto os modos vibracionais da estrutura polimérica, a qual não foi diretamente modificada pelo processo de desacetilação. Por fim, após o cálculo de intensidade de bandas, o polímero nativo apresentou-se em 60%, que o PNAGd conseguiu-se expandir a percentagem de desacetilação para 92%.

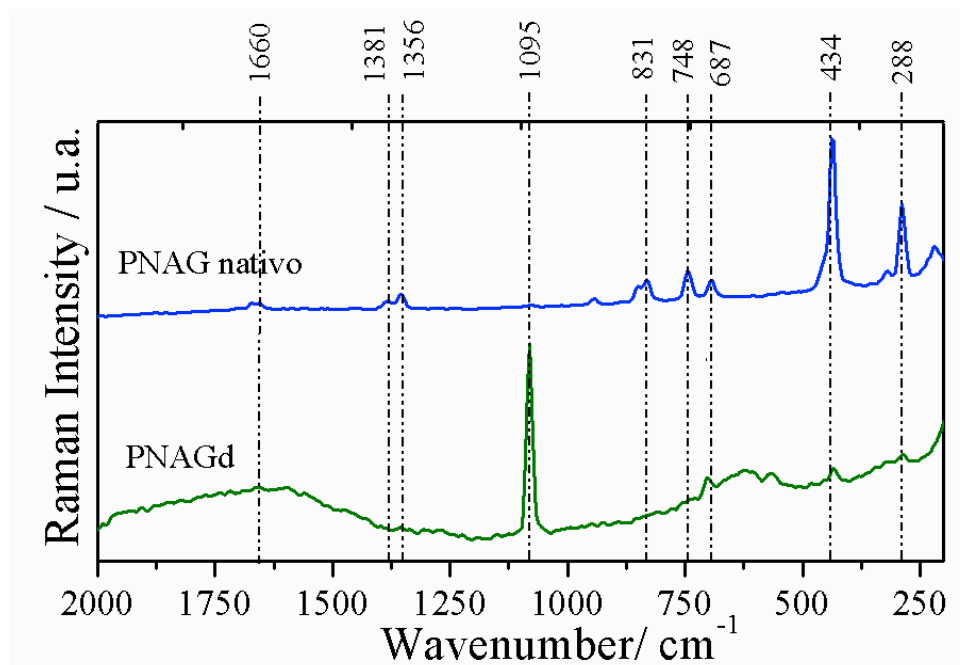


Figura 1. Espectro Raman dos polímeros PNAG nativo e PNAGd.

Conclusões

Através da técnica de espectroscopia Raman foi possível obter a caracterização estrutural do biofilme de *S. aureus*, seguido de descrição detalhada de suas respectivas bandas espectrais típicas. Também foi possível calcular o grau de desacetilação do PNGA de forma rápida e não destrutiva, o que permite o reaproveitamento da amostra para outras abordagens experimentais ou biotecnológicas.

Referências

FARIA, D.L.A.; SANTOS, L.G.C.; GONÇALVES, N.S. Uma Demonstração Sobre o Espalhamento Inelástico de Luz: **Repetindo o Experimento de Raman**, Química Nova 20, 319, 1997; (b) O. Sala, Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho. Editora da Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 1995.

ALMEIDA, M.R.; ALVES, R.S.; NASCIMBEM, L.B.L.R.; STEPHANI, R.; POPPI, R.J.; DE OLIVEIRA, L.F.C. Determination of amylose content in starch using Raman spectroscopy and multivariate calibration analysis. **Anal Bioanal Chem**, 397, 2693-2701. 2010.

ASHTON, L.; LAU, K.; WINDER, C. L. GOODACRE, R. Raman spectroscopy: lighting up the future of microbial identification, **Future Microbiol.** V. 6(9), p.991-997, 2011.

DYBAS, J.; MARZEC, K.M.; PACIA, M.Z.; KOCHAN, K.; CZAMARA, K.; CHRABASZCZ, K.; STANISZEWSKA-SLEZAK, E.; MALEK, K.; BARANSKA, M.; KACZOR, A. Raman spectroscopy as a sensitive probe of soft tissue composition – Imaging of cross-sections of various organs vs. single spectra of tissue homogenates. **Trends in Anal Chemistry**, 85, Part C, 117-127. 2016.

GIERLINGER, N.; SCHWANNINGER, M. Chemical Imaging of Poplar Wood Cell Walls by Confocal Raman Microscopy. **Pl. physiology**, 140, 1246-1254. 2006.

IVLEVA, N.P.; WAGNER, M.; HORN, H.; NIESSNER, R.; HAISCH, C. Towards a nondestructive chemical characterization of biofilm matrix. **Raman microscopy Anal Bioanal Chem.**, 393, 197-206. 2009.

LITVINOV, RUSTEM I.; FAIZULLIN, DZHIGANGIR A.; ZUEV, YURIY F.; WEISEL, JOHN W. The α -Helix to β -Sheet Transition in Stretched and Compressed Hydrated Fibrin Clots. **Biophys J.**, 103, 1020-1027. 2012.

OTTO M. Staphylococcal biofilms. **Curr Top Microbiol Immunol** v.322, p.207–228. 2008.

RAMYA, S.; GEORGE, R.P.; RAO, R.V.S.; DAYAL, R.K. Detection of algae and bacterial biofilms formed on titanium surfaces using micro-Raman analysis. **Applied Surface Science**, 256, 5108-5115. 2010.

STOODLEY, L.H.; COSTERTON, J.W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews–Microbiology**, London, v.2, p.95-108, 2004.

ZAJĄC, A.; HANUZA, J.; WANDAS, M.; DYMIŃSKA, L. Determination of N-acetylation degree in chitosan using Raman spectroscopy. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.**, 134, 114-120. 2015.

Caracterização fenotípica e genotípica da resistência à eritromicina em linhagens de *Streptococcus agalactiae* isoladas de amostras de leite bovino em Minas Gerais¹

Bianca de Oliveira Hosken², Paula Aparecida Azevedo Almeida³, Maria Aparecida V. P. Brito⁴, Daniele Ribeiro de Lima Reis⁵, Letícia Caldas Mendonça⁵, Guilherme Nunes de Souza⁴, Marco Antônio Machado⁴, João Batista Ribeiro⁴, Marcio Roberto Silva^{4,6}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil: Parte do projeto MP3 “ResisLeite”, Código 03.13.14.006.00.00, liderado por João Batista Ribeiro.

²Graduanda em Farmácia – UFJF, Juiz de Fora, MG. Bolsista do PIBIC/CNPq. E-mail: biancahosken@gmail.com

³Mestranda do Curso Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados - UFJF.

⁴Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, /MG. E-mail: marcio-roberto.silva@embrapa.br

⁵Analista, Embrapa Gado de Leite

⁶Orientador

Resumo: *Streptococcus agalactiae* é um dos agentes patogênicos da mastite bovina que mais prejudica a qualidade do leite. Embora a antibioticoterapia seja inevitável para a erradicação desta bactéria dos rebanhos, esta pode levar ao surgimento de cepas resistentes e deixar resíduos de antimicrobianos no leite. Os objetivos deste estudo foram investigar o perfil de susceptibilidade e a presença de determinantes genéticos da resistência à eritromicina em *S. agalactiae* e avaliar o potencial desses genes como marcadores moleculares da resistência a este antibiótico. O perfil de susceptibilidade foi avaliado por teste de difusão em ágar e a detecção de genes foi realizada por PCR. A identidade dos fragmentos de DNA amplificados foi confirmada por sequenciamento. O potencial dos genes como marcadores foi avaliado por análises *in silico* (detecção e comparação de seqüências de genes) e com base nos perfis de resistência fenotípica e genotípica da população de *S. agalactiae* avaliada *in vitro* no presente trabalho. Das 74 estirpes de *S. agalactiae* analisadas, 39 (52,7%) foram consideradas resistentes à eritromicina. Os genes *ermA* e *ermC* não foram detectados *in vitro* no genoma de nenhuma das cepas de *S. agalactiae* analisadas. Os genes *ermA*, *ermB* e *ermC* foram detectados *em silico* em genomas de diferentes espécies bacterianas depositados no NCBI, incluindo *S. agalactiae* e outros patógenos de mastite bovina. As análises de comparação de seqüências apresentaram alta similaridade (> 99%) para os genes *ermB* e *ermC*, mesmo entre espécies taxonomicamente não relacionadas, o que não foi observado para o gene *ermA*. Esses achados confirmam as indicações anteriores do gene *ermB* como o marcador mais adequado para a resistência à eritromicina em *S. agalactiae*.

Palavras-chave: Eritromicina, genes *erm*, mastite bovina, resistência a antibiótico *Streptococcus agalactiae*.

Phenotypic and Genotypic characterization of resistance to erythromycin in *Streptococcus agalactiae* strains isolated from bovine milk samples in Minas Gerais

Abstract: *Streptococcus agalactiae* is one of the bovine mastitis pathogens that most impairs milk quality. Although the antibiotherapy is inevitable for the eradication of this bacterium from the herds, it can lead to the emergence of resistant strains and leave antibiotics residues in milk. The objectives of this study were to investigate the susceptibility profile and the presence of genetic determinants of erythromycin resistance in *S. agalactiae* and evaluate the potential of these genes as molecular markers of the resistance to this antibiotic. The susceptibility profile were assessed by agar diffusion test and gene detection was performed by PCR. The amplicons identity was confirmed by sequencing. The potential of the genes as markers was evaluated by *in silico* analyses (detection and comparison of gene sequences) and based on phenotypic and genotypic resistance profiles of the *S. agalactiae* population evaluated *in vitro* in the present

work. Of the 74 *S. agalactiae* strains analyzed, 39 (52.7%) were considered resistant to erythromycin. The *ermA* and *ermC* genes were detected *in vitro* in the genome of none of the *S. agalactiae* strains analyzed. *ermA*, *ermB*, and *ermC* genes were detected *in silico* in genomes of different bacterial species deposited in NCBI, including *S. agalactiae* and other bovine mastitis pathogens. Sequence comparison analyses showed high similarity (>99%) for the *ermB* and *ermC* genes even among taxonomically unrelated species, what was not observed for the *ermA* gene. These findings confirm previous indications of the *ermB* gene as the most suitable marker for erythromycin resistance in *S. agalactiae*.

Keywords: antibiotic resistance, bovine mastitis, *erm* genes, erythromycin *Streptococcus agalactiae*.

Introdução

Streptococcus agalactiae está presente na maioria dos rebanhos bovinos leiteiros do Brasil e é um dos patógenos que mais contribui para o aumento da contagem de células somáticas e contagem total de bactérias no leite, reduzindo sua qualidade (SEEGERS et al., 2003). Embora inevitável para a erradicação de *S. agalactiae* dos rebanhos, o uso de antibióticos pode levar à emergência de linhagens resistentes, sendo necessário então, que estes medicamentos sejam usados de forma racional.

Um dos antimicrobianos utilizados no tratamento da mastite bovina é a eritromicina, um macrolídeo que inibe a síntese proteica através da sua ligação reversível à subunidade ribossomal 50S. No Brasil, pouco se sabe sobre os perfis e os mecanismos moleculares de resistência a este antimicrobiano em patógenos da mastite. Pinto et al. (2013) caracterizaram a resistência à eritromicina em *S. agalactiae* de origem bovina, provenientes dos estados do Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo mostrando que houve um aumento da resistência a este antibiótico de 10,5% (entre 1987 e 1988) para 60% (entre 2003 e 2006).

Em *Streptococcus* spp. a resistência à eritromicina é mediada predominantemente por metilases codificadas por genes *erm*, as quais modificam o sítio de ligação do antibiótico nos ribossomos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de susceptibilidade e investigar a presença de determinantes genéticos da resistência à eritromicina (*ermA* e *ermC*) em *S. agalactiae* e avaliar o potencial dos genes *ermA*, *ermB* e *ermC* como marcadores moleculares de resistência.

Material e Métodos

Foram utilizadas 74 linhagens de *S. agalactiae* e 7 de *Staphylococcus* spp. pertencentes à Coleção de Microrganismos de Interesse da Agroindústria e Pecuária da Embrapa sediada na Embrapa Gado de Leite. A extração de DNA dos isolados foi realizada por protocolo que emprega o fenol/clorofórmio. O perfil de susceptibilidade à eritromicina foi determinado por meio do método de difusão em ágar Mueller Hinton (CLSI, 2013).

Primeiramente, os genes *ermA* e *ermC* foram pesquisados em linhagens de *Staphylococcus* spp. multirresistentes visando identificar bactérias portadoras dos mesmos para uso como controle positivo das reações. Para determinar as sequências de nucleotídeos dos fragmentos de DNA foi utilizada a técnica de terminação da cadeia. Em seguida amostras de DNA das linhagens de *S. agalactiae* consideradas resistentes à eritromicina foram avaliadas por meio de PCRs individuais quanto à presença dos genes supracitados. As sequências dos *primers* utilizados, as composições das reações e as condições de termociclagem para padronização das reações foram realizadas conforme previamente descrito (LINA, et al. 1999).

Visando avaliar o potencial dos genes como marcadores moleculares da resistência à eritromicina foram realizadas análises *in silico* para detecção de genomas portadores dos genes *ermA*, *ermB* e *ermC* e feitos os isolamentos (também *in silico*) destes a partir dos genomas de diferentes linhagens e espécies de patógenos da mastite bovina utilizando a ferramenta "*Pick Primers*" do Centro Nacional de Informação Biotecnológica (NCBI). Em seguida essas sequências de nucleotídeos foram comparadas entre si utilizando o *software* CLUSTALW visando avaliar o grau de similaridade das mesmas entre as diferentes espécies. Finalmente, foram considerados os perfis fenotípicos e genotípicos de resistência da população de *S. agalactiae* avaliada no presente estudo.

Resultados e Discussão

Dentre as 74 linhagens de *Streptococcus agalactiae* analisadas no presente trabalho, 35 (47,3%) foram consideradas susceptíveis e 39 (52,7%) apresentaram resistência à eritromicina no teste fenotípico realizado por antibiograma. Duarte et al. (2004) verificaram em um estudo realizado no Brasil que 10,5% das linhagens de *S. agalactiae* isoladas bovinos eram resistentes à eritromicina e Gao et al. (2012) relataram uma taxa de 23,5% de resistência em isolados de rebanhos bovinos na China. Isso demonstra que o nível de resistência a esse antimicrobiano nas linhagens de *S. agalactiae* isoladas de rebanhos bovinos na região da Zona da Mata Mineira analisadas no presente estudo pode ser considerado elevado.

Foram identificadas três linhagens de *Staphylococcus spp.* portadoras dos genes *ermC* (CT141, CI8969 e CT225) e uma carregando o gene *ermA* (CI8970). Para todas as linhagens supramencionadas foram obtidas ampliações específicas dos fragmentos de DNA de 421pb e 572pb correspondentes aos genes *ermA* e *ermC*, respectivamente (Figura 1). Análises das sequências de nucleotídeos destes *amplicons* demonstraram 100% de identidade com genes *ermA* e *ermC* depositados no NCBI. Estas linhagens foram utilizadas como controles positivos e na otimização das PCRs nas análises subsequentes.

Não foram observadas ampliações dos genes *ermA* e *ermC* para nenhuma das linhagens de *S. agalactiae* analisadas, sugerindo que tais bactérias não carregam estes genes. Considerando que todas as amostras de DNA usadas como controle positivo eram provenientes do gênero *Staphylococcus*, foram realizadas análises *in silico* para verificar o nível de similaridade desses genes entre as diferentes linhagens e espécies de patógenos da mastite bovina. As sequências de nucleotídeos dos genes *ermA*, *ermB* e *ermC* foram detectadas *in silico* nos genomas de diferentes espécies bacterianas (*S. agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus uberis*, entre outros) depositados no NCBI, utilizando os mesmos conjuntos de oligonucleotídeos usados no presente trabalho e outros descritos na literatura. As análises de comparação de sequências para o genes *ermB* e *ermC* evidenciaram um elevado grau de similaridade (>90%) entre os genes detectados mesmo quando obtidos de espécies pouco relacionadas do ponto de vista taxonômico.

Em um estudo prévio de nossa equipe foi verificada a presença do gene *ermB* em todas essas linhagens, o que provavelmente explica a resistência à eritromicina nestes isolados (comunicação pessoal). Um resultado semelhante foi relatado por Dogan et al. (2005) estudando *S. agalactiae* de bovinos em Nova York onde se constatou que 100% dos isolados resistentes carregavam o gene *ermB*. O fato de não se ter detectado o gene *ermC* no presente trabalho pode ser explicado pela sua provável ausência no genoma das linhagens de *S. agalactiae* analisadas, enquanto que para o gene *ermA*, será necessário realizar novas buscas usando outros conjuntos de oligonucleotídeos para descartar a possibilidade da presença do gene no genoma dessas linhagens. Este resultado corrobora os dados da literatura de que a resistência à eritromicina nesta bactéria é comumente mediada pelo gene *ermB*, o qual é muito disseminado entre patógenos da mastite bovina, enquanto o gene *ermC* só foi encontrado até o momento em *Staphylococcus spp.*

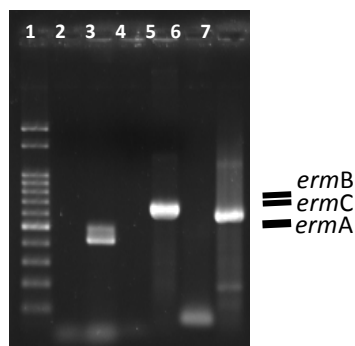


Figura 1. Eletroforese em gel de agarose 1,5% dos produtos de amplificação dos genes *erm*. Marcador 100pb (1), controles negativos (2, 4 e 6), gene *ermA* - 421 pb (3), gene *ermC* - 572 pb (5) e gene *ermB* - 639 pb (7).

Conclusões

Das 74 linhagens de *S. agalactiae* analisadas, a maioria (52,7%) foi considerada resistente à eritromicina. Os genes *ermA* e *ermC* não foram detectados *in vitro* em nenhuma das linhagens. O gene *ermB* foi confirmado como o mais indicado para uso como marcador da resistência à eritromicina em *S. agalactiae*.

Agradecimentos

Ao CNPq (Processo 578430/2008-8), à Fapemig (Processo PPM-00406-14), à Embrapa (Projeto MP3 Código 03.13.14.006.00.00) e ao técnico do Laboratório de Microbiologia do Leite, Marcos A. S. Silva.

Referências

- DOGAN, B., SCHUKKEN, Y. H., SANTISTEBAN, C., BOOR, K. J. Distribution of serotypes and antimicrobial resistance genes among *Streptococcus agalactiae* isolates from bovine and human hosts. **J. Clin. Microbiol.** 43, 5899–5906, 2005.
- DUARTE, R. S., MIRANDA, O. P., BELLEI, B. C., BRITO, M. A. V. P.; TEIXEIRA, L. M. Phenotypic and molecular characteristics of *Streptococcus agalactiae* isolates recovered from milk of dairy cows in Brazil. **J. Clin. Microbiol.**, 42 (9):4214-4222, 2004.
- GAO, J., YU, FU-QING, LUO, L. P., JIAN-ZHONG H., RONG-GUANG H., HAN-QI, Z., SHU-MEI, L. C., SU., J. L., HAN, B. Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* from cows with mastitis. **The Vet. J.**, 194:423-424, 2012.
- LINA, G.; QUAGLIA, A.; REVERDY, M. E.; LECLERCQ, R.; VANDENESCH, F.; ETIENNE, J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. **Antimicrob. Agents Chemother.** 43:1062-1066, 1999.
- PINTO, T. C.; COSTA, N.S.; VIANNA, A.R.; SILVA, L.G.; CORRÊA, A.B.; FERNANDES, F.G.; OLIVEIRA, I.C.; MATTOS, M.C.; ROSADO, A.S; BENCHETRIT, L.C. Distribution of serotypes and evaluation of antimicrobial susceptibility among human and bovine *Streptococcus agalactiae* strains isolated in Brazil between 1980 and 2006. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 17, n. 2, p. 131-136, Mar./Apr. 2013.
- SEEGERS, H.; FOURICHON, C.; BEAUDEAU, F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. **Vet. Res.**, 34:475-491, 2003.

Comparação do custo/benefício energético-nutricional dos produtos lácteos com o de outros alimentos consumidos em MG¹

Guilherme W. Marcelino², Cristiano A. V. Borges^{3,7}, Kennya B. Siqueira⁴, Amanda F. Pilati⁵, Marco A. S. Gama⁴, Paulo H. F. Silva⁶, Mirella L. Binoti⁶, Renato M. Nunes⁶, Lorildo A. Stock³

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fapemig e apresentado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. Parte do projeto “Comparação do custo dos nutrientes dos lácteos para os consumidores mineiros”, liderado por Kennya Beatriz Siqueira.

²Graduando em Estatística, UFJF. Bolsista de IC Fapemig. E-mail: guilherme1marcelino@gmail.com

³Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG

⁴Pesquisador, Embrapa Gado de Leite

⁵Graduanda em Nutrição, UFJF. Bolsista de IC Fapemig

⁶Professor, Dep. Nutrição – Instituto de Ciências Biológicas, UFJF, Juiz de Fora/MG

⁷Orientador. E-mail: cristiano.borges@embrapa.br

Resumo: A ingestão inadequada de nutrientes é um problema atual e recorrente, com impactos na economia de uma população. O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de comparar a relação do custo/benefício energético-nutricional dos alimentos lácteos, para os consumidores mineiros, com o de outros produtos da dieta mineira. Foram considerados 380 produtos agrupados em 13 categorias de acordo com a composição nutricional. Dois novos indicadores de densidade nutricional foram definidos e empregados numa abordagem de localização espacial e cálculo de distâncias lineares, de forma a se obter um *ranking* de comparação dos produtos. Os grupos das verduras e das frutas ocuparam as primeiras posições no *ranking* por categoria, enquanto os lácteos ocuparam a quinta posição, uma posição intermediária. Contudo, alguns lácteos se destacaram tanto no *ranking* individual por produto (leite desnatado, leite em pó desnatado e leite semidesnatado), figurando entre o 12º e o 16º percentis, quanto nos *rankings* particularizados por nutriente, de cálcio e de vitamina D (leite integral e leite pasteurizado, nas duas primeiras posições, em ambos os casos), e de proteína e de vitamina A.

Palavras-chave: densidade energética, densidade nutricional, distância euclidiana, leite, preço

Comparison of the nutritional cost/benefit of dairy products with that of other foods consumed in Minas Gerais, Brazil

Abstract: Inadequate nutrients intake is a current and recurring problem with impacts on the economy of a population. The objective of the present work was to compare the cost/benefit ratio of dairy foods, relative to the energy and nutritional intakes, for the consumers of Minas Gerais, with the ones obtained for other products most consumed at this Brazilian state. A total of 380 products were selected from the Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 survey and grouped into 13 categories according to the nutritional composition. Two new indicators of nutritional density were defined and employed in a comparative analysis approach involving spatial localization and calculus of linear distances, in order to obtain a ranking of products. Vegetables and fruits groups ranked first in the ranking by category, while dairy products ranked fifth, figuring in an intermediate position. However, some dairy foods have stood out in the individual product rankings (skim milk, powdered skim milk and semi-skim milk), ranking between the 12th and 16th percentiles, as well as in calcium and vitamin D (whole milk and pasteurized milk, the first two in both cases), and in protein and vitamin A specific rankings.

Keywords: energetic density, euclidean distance, milk, nutritional density, price

Introdução

A ingestão inadequada de nutrientes, seja pela subnutrição ou pela sobrenutrição, afeta não apenas a saúde, mas também a economia de uma população, uma vez que acarreta maiores gastos com saúde pública e queda da produtividade dos trabalhadores. E com o aumento no preço dos alimentos básicos previsto para a próxima década (FAO/OECD, 2013), o consumidor brasileiro – notadamente o de baixa renda – pode encontrar dificuldades para manter uma ingestão adequada de nutrientes, particularmente em momentos de crise econômica como o atualmente vivido. Por isso, os governos estão dando mais atenção à qualidade da dieta e à escolha alimentar da população, e torna-se oportuno realizar uma análise comparativa do custo/benefício do aporte de nutrientes de diferentes alimentos da dieta padrão do brasileiro.

Sendo o leite um produto reconhecidamente rico em alguns nutrientes essenciais, e também um produto típico da dieta do consumidor mineiro, interessa fazer uma comparação do valor pago, em MG, para ingestão de determinados nutrientes através de produtos lácteos, frente a outros produtos habitualmente consumidos no estado. Assim, o presente trabalho propõe-se a fazer uma análise do custo/benefício energético-nutricional dos lácteos, comparando-o ao de outros alimentos tradicionais da dieta mineira, com vistas a identificar os produtos simultaneamente mais nutritivos e acessíveis ao consumidor mineiro.

Para atingir este propósito, adotou-se a linha de raciocínio de Drewnowski (2005), que propõe a comparação de alimentos através de um *score* de densidade nutricional, definido em termos da composição nutricional e da densidade energética (kcal/g) de cada alimento, e da ingestão diária recomendada (IDR) para cada nutriente. A partir de um *subscore* para nutrientes a serem incentivados e outro para nutrientes a limitar, que são os componentes do *score* de densidade nutricional, e motivados pela incitação de Drewnowski (2009) quanto à possibilidade de novas formas de utilizá-los, propomos neste trabalho a utilização de novos indicadores, aos quais denominamos riqueza nutricional (RIQ) e diversidade nutricional (DIV).

Material e Métodos

Foram utilizados os dados de 380 produtos constantes das tabelas de composição nutricional da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 2008-2009 do IBGE (IBGE, 2011), agrupados em 13 categorias de acordo com a composição nutricional. Os preços dos alimentos por porção de 100 g foram coletados em dois períodos diferentes do ano para minimizar os efeitos de sazonalidade e inflação.

O cálculo do *score* de densidade nutricional foi baseado no estudo de Drewnowski (2009), considerando oito nutrientes cujo consumo deve ser incentivado (teores de proteína, fibras, cálcio e ferro, e das vitaminas A, C, D e E) e dois nutrientes a serem limitados (sódio e açúcar adicionado). A seleção dos nutrientes foi baseada na definição de alimento saudável da agência norte-americana *Food and Drug Administration* (FDA) e nas estatísticas de deficiências nutricionais da população brasileira.

O *score* de densidade nutricional (*Nutrient Rich Food* – $NRF_{8,2}$) é definido pela simples subtração $NRF_{8,2} = NR8 - LIM2$, onde os *subscores* $NR8 = \sum_{i=1}^8 Nut_inc_i / (8 \times IDR_i) \times (100 / dens_energ)$ e $LIM2 = \sum_{j=1}^2 Nut_lim_j / (2 \times IDR_j) \times (100 / dens_energ)$ são as médias de composição nutricional – em relação à IDR – dos nutrientes que devem ser incentivados e dos que devem ser limitados, respectivamente; IDR_i representa a quantia equivalente a 30% da IDR para o *i*-ésimo nutriente; Nut_inc_i e Nut_lim_j referem-se às quantidades do *i*-ésimo nutriente a ser incentivado e do *j*-ésimo nutriente a ser limitado, em 100 g de alimento; e $dens_energ$ é a densidade energética (kcal) contida também em 100 g do produto.

Com base no plano cartesiano formado por $NR8 \times LIM2$ (abscissas \times ordenadas, respectivamente), os novos indicadores de densidade nutricional propostos neste trabalho foram definidos como sendo os novos eixos-coordenados obtidos a partir de uma rotação de -45° desse sistema. Empregando conceitos básicos de geometria analítica, obtivemos $x' = RIQ = \sqrt{2}/2 (NR8 - LIM2)$ e $y' = DIV = \sqrt{2}/2 (NR8 + LIM2)$.

Considerando agora os três indicadores – RIQ, DIV e preço – como eixos de um sistema de eixos-coordenados, formando um espaço cartesiano tridimensional, os dados dos alimentos foram utilizados para localizá-los neste espaço, e foi estabelecido o ponto (RIQ máxima, DIV máxima e preço mínimo) como um ponto referencial teórico desejável, onde um alimento

hipotético nele situado teria a máxima riqueza e máxima diversidade nutricional, e custo em torno de zero.

A partir disso, foi criado um *ranking* para a comparação dos produtos, através do cálculo das distâncias lineares (distância euclidiana) entre o ponto de localização de cada produto e o ponto referencial, de forma que os alimentos mais próximos do ponto referencial, ou seja, com as menores distâncias euclidianas com relação a este ponto, fossem os mais bem classificados no *ranking*.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta o resultado do *ranking* por categoria de produtos.

Tabela 1. *Ranking* por categoria.

Categoria	Riqueza nutr. média	Diversidade nutr. média	Preço médio	Dist. méd. ao ponto de ref. ideal	Pos.
Verduras, hortaliças e deriv.s	0,27	0,41	R\$ 2,78	8,13	1
Frutas e derivados	0,22	0,22	R\$ 1,16	8,46	2
Pescados e frutos do mar	0,09	0,20	R\$ 4,29	8,58	3
Leguminosas e derivados	0,05	0,12	R\$ 3,87	8,94	4
Leite e derivados	0,02	0,15	R\$ 3,37	8,98	5
Ovos e derivados	0,06	0,12	R\$ 5,49	9,04	6
Carnes e derivados	0,01	0,21	R\$ 2,38	9,12	7
Bebidas	0,02	0,17	R\$ 1,52	9,12	8
Outros alimentos	-0,12	0,29	R\$ 2,74	9,15	9
Diet e light	-0,01	0,15	R\$ 4,38	9,15	10
Cereais e derivados	-0,03	0,12	R\$ 1,81	9,22	11
Nozes e sementes	0,02	0,15	R\$ 3,37	9,29	12
Produtos açucarados	-0,03	0,08	R\$ 4,82	9,41	13

Verduras e frutas ocuparam as primeiras posições, pelo fato de possuírem, em média, alta riqueza e alta diversidade nutricional, a um custo médio relativamente baixo. Os lácteos ocuparam a quinta posição, logo após o grupo dos peixes e praticamente empatados com as leguminosas e com os ovos, resultado similar ao encontrado por Drewnowski (2010). Entretanto, se em termos médios, por categoria de alimento, o grupo dos lácteos ocupou uma posição intermediária, no *ranking* individual por produto alguns lácteos ocuparam posição de destaque, como o leite desnatado, o leite em pó desnatado e o leite semidesnatado, que ocuparam a 47^a, 49^a e 59^a posições, respectivamente, dentre os 380 produtos comparados, situando-se, portanto, entre o 12^o e o 16^o percentil.

Os lácteos também se destacaram individualmente nos *rankings* particularizados por nutriente, nos quais o leite integral e o leite pasteurizado despontaram como as fontes mais baratas para a obtenção da quantia equivalente a 30% da IDR de cálcio e de vitamina D. Estes dois produtos, juntamente com os leites desnatado, semidesnatado, em pó integral e em pó desnatado, integraram as listas dos 10 produtos com melhor relação de custo/benefício para ingestão de cálcio, e a lista dos sete melhores economicamente para obtenção de vitamina D. Verificou-se ainda que alguns produtos lácteos são fontes baratas de proteína e de vitamina A.

Conclusões

Em virtude da elevada densidade nutricional, da baixa densidade energética e do custo médio relativamente baixo, as verduras e as frutas apresentaram o melhor custo/benefício energético-nutricional dentre os alimentos avaliados neste estudo. No *ranking* por categoria de alimento, os lácteos ocuparam o 5^o lugar, uma posição intermediária. Contudo, alguns lácteos se destacaram no *ranking* geral por produto (leite desnatado, leite em pó desnatado e leite semidesnatado) e nos *rankings* particularizados por nutriente – especificamente o do cálcio e o da vitamina D – nos

quais o leite integral e o leite pasteurizado despontaram como as fontes mais baratas para a obtenção de 30% da IDR. Verificou-se ainda que alguns produtos lácteos são fontes baratas de proteína e de vitamina A. Resultados como estes servem como orientadores aos consumidores mineiros na escolha por alimentos com melhor aporte nutricional por conteúdo energético, com menor dispêndio financeiro.

Referências

DREWNOWSKI, A. Concept of a nutritious food: toward a nutrient density score. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.82, p.721-732, 2005.

DREWNOWSKI, A.; MAILLOT, M.; DARMON, N. Should nutrient profiles be based on 100 g, 100 kcal, or serving size? **European Journal of Clinical Nutrition**, v.63, p.898-904, 2009.

DREWNOWSKI, A. The cost of US foods as related to their nutritive value. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.92, p.1181-1188, 2010.

FAO/OECD - **Food and Agriculture Organization/Organisation for Economic Co-operation and Development**. Disponível em: <http://www.fao.org/index_en.htm>. Acesso em: 5 out. 2013.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Tabela de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil** (Estruturada para Banco de Dados). Rio de Janeiro, 2011.

Desenvolvimento de metodologia de cultivo de hepatócitos bovinos *in vitro* para estudos moleculares e bioquímicos¹

Giuliana Xavier de Medeiros^{1,2}, Felipe Vieira³, Thiago Oliveira³, Raquel Paiva⁴, Mariana Barbosa³, Marco Antônio Machado⁵, Marta Martins⁵, Humberto Brandão⁵, Wanessa Araújo Carvalho^{5,6}

¹O presente trabalho foi apresentado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil

²Bolsista da Fapemig, graduanda em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Juiz de Fora. E-mail: giulianaxm@gmail.com

³Mestrando em Genética – Universidade Federal de Juiz de Fora

⁴Doutoranda em Genética – Universidade Federal de Juiz de Fora

⁵Pesquisador(a), Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora MG

⁶Orientador

Resumo: O fígado é responsável pela regulação do metabolismo animal e produção de proteínas do sistema imune, sendo o estudo de suas vias essencial para o entedimento de processos como sinalização intracelular e análise de rotas metabólicas. Para tal, foi desenvolvida uma metodologia de isolamento e cultivo primário de hepatócitos bovinos *in vitro*. Hepatócitos foram isolados de fígado bovino pelo método enzimático sem perfusão com colagenase tipo II. O método de exclusão por Azul de Trypan foi usado para determinar o rendimento total de células e a taxa de sobrevivência dos hepatócitos cultivados na ausência de matriz, em placas recobertas com colágeno ou gelatina. RNA foi extraído das células isoladas, quantificado com Nanodrop e a qualidade foi analisada através do Bioanalyzer. Os resultados apontaram um rendimento de cerca de $1,7 \times 10^6$ células viáveis/g de fígado onde hepatócitos bovinos apresentaram maior integridade morfológica quando cultivados em monocamada de gelatina, com uma média de viabilidade de 52,5%. A quantidade e integridade do RNA também foram superiores nesta configuração de matriz. O estabelecimento de um protocolo de cultivo de hepatócitos bovinos será uma ferramenta útil para estudos de metabolização de drogas, imunomodulação e sinalização intracelular impactando sobre a agilidade em testes e obtenção de novos fármacos para o campo veterinário.

Palavras-chave: cultivo celular, hepatócito, isolamento celular.

Development of a novel methodology for bovine hepatocyte culture *in vitro* for molecular and biochemical studies

Abstract: The liver is responsible for the regulation of animal metabolism and production of immune system proteins, so studying its signaling pathways is vital for the understanding of metabolic routes. In order to develop a methodology for metabolic pathways analysis, the isolation and primary hepatocyte culture was studied. Hepatocytes were isolated from a bovine liver using the non-perfusion enzymatic digestion method with collagenase type II. The trypan blue exclusion method was used to determine total cell number and the survival rate of hepatocytes. RNA was extracted from the isolated cells, quantified with Nanodrop spectrophotometer and quality was assessed on Bioanalyzer. Results showed that the gelatin monolayer presented higher cell viability, with an average hepatocyte viability of 52,5 % and $1,7 \times 10^6$ viable cells/g of liver. RNA quantification and integrity were also higher with the gelatin monolayer configuration, making it the most adequate matrix for hepatocyte culture. Therefore this is a simplified procedure for the isolation and culture of functional and viable hepatocytes may be applied for *in vitro* studies in veterinary field.

Keywords: cell culture, hepatocyte, cell isolation, viability

Introdução

O fígado é um órgão essencial para regulação do metabolismo (ZHANG; LI et al., 2012) sendo a principal fonte de fatores de complemento e proteínas de fase aguda em mamíferos

(MOSHAGE, 1997). O isolamento e cultivo de hepatócitos são amplamente usados para avaliar a farmacocinética de drogas, sinalização intracelular, citotoxicidade, transporte e metabolismo de lipídios, regulação hormonal e imunidade inata em estudos *in vitro* em modelo murino e humanos. No entanto, para a espécie bovina, é necessário o estabelecimento de metodologias que atendam os pré-requisitos de viabilidade, integridade morfológica e molecular para que esses estudos possam ser conduzidos com maior reprodutibilidade. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é estabelecer uma metodologia para o isolamento e cultivo de hepatócitos bovinos com alta viabilidade e condições adequadas para estudos de biologia molecular e metabolismo celular aplicado ao desenvolvimento de novos fármacos na área agropecuária.

Material e Métodos

Isolamento e cultivo dos hepatócitos: O lobo caudal foi excisado do fígado bovino em abatedouro local (Fripai, Juiz de Fora – MG) e armazenado em gelo até o regresso à Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora - MG). Para o isolamento de hepatócitos, foram utilizadas aproximadamente 15 gramas de tecido que foi fragmentado com uma tesoura em solução de tampão fosfato salino (PBS; Amresco, Cleveland, Ohio, EUA) e incubados com uma solução de colagenase 0,05% (Worthington Industries, OH, EUA), a 37° por 15 minutos. Após incubação a colagenase foi inativada com soro fetal bovino (SFB 10%), as células filtradas com auxílio de um *cell strainer* de 70 µm (Corning, New York, USA) e centrifugadas a 50 g por 5 minutos a 20 °C com posterior descarte do sobrenadante. As células foram submetidas a um gradiente de Percoll (densidade 1,124 g/ml; GE Health Care, Little Chalfont, UK). O *pellet* formado foi ressuscitado em 12,5 mL de PBS 1x, transferido para um tubo contendo e 1,2 de DMEM (4,5 g/L glicose; ThermoFisher, MA, EUA) e centrifugado a 500 g por 15 min. O anel de hepatócitos foi lavado em 30 mL de meio HBSS + SFB 10% e as células ressuscitadas em meio DMEM/F12 + SFB 10% para análise do rendimento e viabilidade por Azul de Tripán 0,85% (Casa da Química, Brasília, Distrito Federal, Brasil) em Câmara de Neubauer com auxílio de microscópio invertido. Foram plaqueadas $2,5 \times 10^6$ células por poço em 05 configurações de matriz: monocamada de gelatina 2%, monocamada de colágeno 300 µg/mL, sanduíche de gelatina 2%, sanduíche de colágeno 300 µg/mL e sem matriz. Para preparo da matriz em sanduíche, as células não aderentes foram retiradas após 24h de cultivo e depois a segunda camada foi adicionada. Os hepatócitos foram mantidos por 7 dias à 37 °C em estufa com umidade controlada e 5% de CO₂ sendo feitas 3 trocas de meio ao longo deste período. As análises estatísticas foram feitas usando *1-way ANOVA*, no Prism 6 (GraphPad Software Inc, NC, EUA).

Extração do RNA: A extração do RNA foi realizada com a metodologia do TRIzol™ (Invitrogen, CA EUA). Basicamente, o meio de cultura foi retirado e 300 µL de TRIzol foram adicionados a cada poço. O lisado foi centrifugado e à fase clara adicionou-se 60 µL de clorofórmio, seguido por incubação e centrifugação (12.000 g por 5min). Foram adicionados 2 µL de glicogênio e 150 µL de isopropanol à fase aquosa obtida, que foi então incubada e centrifugada. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi ressuscitado em 300 µL de etanol 75%, centrifugado e deixado para secar por 15 minutos. Por fim, o *pellet* foi suspenso em 20 µL de água RNase *free* e incubado em banho maria a 55 °C por 10min. O RNA extraído foi quantificado no Nanodrop 1000 (ThermoFisher, MA, EUA) e a qualidade foi analisada com o uso do equipamento de eletroforese capilar Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, CA, EUA), que calcula a integridade através de um algoritmo (RIN) e o classifica numa escala de 1 a 10, onde 1 corresponde à RNA muito degradado e 10 altamente íntegro.

Resultados e Discussão

A viabilidade celular avaliada pela coloração com Azul de Trypan demonstrou maior eficiência com a dupla camada de colágeno (sanduíche) e a monocamada de gelatina (Figura 1). O total de células viáveis com a monocamada chegou a $1,7 \times 10^6$ células/g de fígado, com uma média de 52,2% de viabilidade. A quantificação de RNA e qualidade também foram maiores no cultivo com monocamada de gelatina (Figura 2). Apesar da proximidade do RNA *Integrity Number* (RIN) médio entre as amostras de cultivo de monocamada de gelatina e sem ECM, nota-se maior degradação na amostra sem matriz (Figura 2, destacado em vermelho).

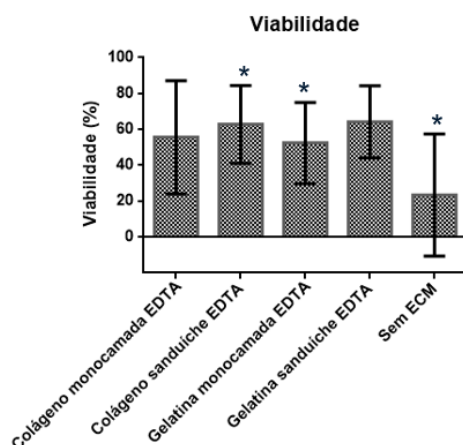


Figura 1. Viabilidade de hepatócitos bovinos isolados e cultivados *in vitro* com cinco configurações diferentes de matriz após 24h de cultivo. No eixo y: Viabilidade de hepatócitos calculada pela divisão do número de células viáveis pelo número total de hepatócitos contados na câmara de Neubauer. No eixo x: configurações de matriz utilizadas. *T-test, $p < 0,05$.

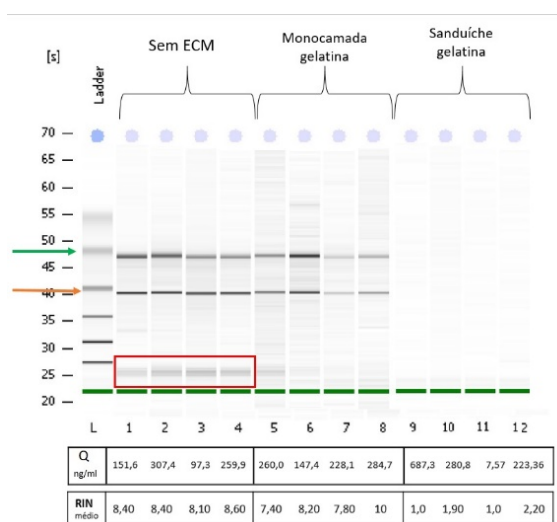


Figura 2. Integridade do RNA extraído de hepatócitos bovinos. Gel capilar de amostras cultivadas: sem ECM (linhas 1 a 4), com monocamada de gelatina (linhas 5 a 8) e sanduíche de gelatina (linhas 9 a 12). Em destaque, bandas das subunidades de rRNA 28S (seta verde), 18S (seta laranja) e bandas de degradação do RNA (box vermelho). A quantificação e RIN calculado para cada amostra também está apresentado no extremo inferior da figura.

Conclusões

Foi estabelecido um protocolo de cultivo de hepatócitos bovinos com alta viabilidade e qualidade de material genético para estudos de metabolização de drogas, imunomodulação e sinalização intracelular de bovinos *in vitro*.

Agradecimentos

Esse trabalho foi realizado graças ao financiamento da Fapemig e apoio da Embrapa Gado de Leite e MCTI/INCT – Ciência Animal. Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Referências

EHRHARDT S, SCHMICKE M. Isolation and cultivation of adult primary bovine hepatocytes from abattoir derived liver. **EXCLI Journal** 2016; 15:858-866.

FRANCISCHETTI, I.; MATHER, T.; RIBEIRO, J. Tick saliva is a potent inhibitor of endothelial cell proliferation and angiogenesis. **Thrombosis and Haemostasis**, 2005.

GARCIA GR, MARUYAMA SR, NELSON KT, et al. Immune recognition of salivary proteins from the cattle tick *Rhipicephalus microplus* differs according to the genotype of the bovine host. **Parasites & Vectors** 2017; 10:144.

LEE JTY, KENNETH CMC, LEUNG VYL Systematic Study of Cell Isolation from Bovine Nucleus Pulposus: Improving Cell Yield and Experiment Reliability. **Journal of Orthopaedic Research** (2015); 33:12.

MOSHAGE, H. Cytokines and the hepatic acute phase response. **The Journal of Pathology**, v. 181, n. 3, p. 257-266, 1997.

OLIVEIRA, C. et al. Tick saliva induces regulatory dendritic cells: MAP-kinases and Toll-like receptor-2 expression as potential targets. **Veterinary Parasitology**, v. 167, n. 2-4, p. 288-297, 2010.

POOLE, N. M., MAMIDANNA, G., SMITH, R. A., COONS, L. B. E COLE, J. A. Prostaglandin E2 in tick saliva regulates macrophage cell migration and cytokine profile. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 261, 2013.

VALENZUELA, J.G.; CHARLAB, R.; MATHER, T.N.; RIBEIRO, J.M. Purification, cloning, and expression of a novel salivary anticomplement protein from the tick, *Ixodes scapularis*. **J. Biol. Chem.** v.275, p.18717–18723, 2000.

ZHANG ZG, LI XB, et al. An updated method for the isolation and culture of primary calf hepatocytes. **The Veterinary Journal** 191 (2012) 323–326.

Evolução fenotípica e genética no Núcleo MOET de seleção da raça Guzerá¹

Miriã Ribeiro Saidler², Maria Gabriela Campolina Diniz Peixoto^{3,4}, Frank Ângelo Tomita Bruneli³,
Glaucyana Gouvêa dos Santos³

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, e da Fapemig, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.

²Graduanda em Ciências Biológicas – CES/JF, Juiz de Fora. Bolsista PIBIC CNPq. E-mail: mirisaidler@hotmail.com

³Pesquisador, Núcleo Temático de Produção e Bem-estar Animal – Embrapa Gado de Leite/Juiz de Fora. E-mail: gabriela.peixoto@embrapa.br

⁴Orientador

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar as tendências fenotípicas, genéticas e de endogamia no Núcleo MOET de seleção da raça Guzerá. Para tanto, foram obtidas informações da base de dados do Programa Nacional de Melhoramento do Guzerá para Leite. Os dados consistiram das produções de leite e sólidos em 305 dias de lactação, das estimativas de DEP dos animais para essas características, bem como de seu coeficiente de endogamia. Para esses dados, foram calculadas as médias anuais no período de 1993 a 2013, usando os procedimentos disponíveis no pacote SAS[®] (SAS, 2012). Para obtenção das tendências, as médias foram regredidas no ano de nascimento dos animais, usando o pacote Excel. A tendência anual das médias de endogamia revelou o incremento anual de 0,05%. Este valor foi considerado baixo, e decorrente do planejamento de acasalamentos e da formação de famílias de origem geneticamente distantes. Foram observadas tendências positivas das médias fenotípicas (+22 kg/ano) e genéticas (+12 kg/ano), atribuídas ao ganho genético pelo esquema de seleção no núcleo MOET. Pode-se concluir que o Núcleo MOET foi eficiente em contribuir para o progresso genético da raça Guzerá para leite, sem impactar expressivamente o coeficiente médio de endogamia e, por conseguinte, a variabilidade genética.

Palavras-chave: DEP, Endogamia, Produção de Leite, Seleção

Phenotypic and genetic evolution in the MOET Nucleus of Guzerá breed

Abstract: The objective of this study was to evaluate the phenotypic, genetic and endogamy trends in the MOET Nucleus of selection in the Guzerá breed. For this purpose, information was obtained from the National Program for the Improvement of Guzerá for Milk Purpose database. The data consisted of the milk and solids production in 305 days of lactation, the estimates of DEP of animals for both traits, as well as their coefficient of inbreeding. For this information, the annual averages were calculated from 1993 to 2013, using the procedures available in the SAS[®] package (SAS, 2012). To obtain the trends, the means were regressed in the year of birth of the animals, using the Excel package. The annual trend of inbreeding averages revealed an annual increase of 0.05%. This value was considered low and due to the both mating planning and formation of genetically distant families. Positive trends of the phenotypic means (+22 kg/year) and genetic (+12 kg/year), attributed to the genetic gain by the selection scheme in the MOET nucleus were observed. It can be concluded that the MOET Nucleus was efficient in contributing to the genetic progress of the Guzerá breed for milk, without significant impact on the average inbreeding coefficient and, therefore, genetic variability.

Keywords: PTA, Inbreeding, Milk Production, Selection

Introdução

O Programa Nacional de Melhoramento do Guzerá para Leite (PNMGuL) se baseia na integração de modernas ferramentas do melhoramento animal com o intuito de imprimir rapidez e confiabilidade à seleção. A partir do teste de progênie e do esquema de Núcleo MOET (múltipla ovulação e transferência de embrião), o programa gera informações usadas nas avaliações

genéticas da raça para características de importância à produção de leite. O teste de progênie consiste da aferição do desempenho produtivo das filhas de touros em diferentes rebanhos, produzidos por acasalamentos aleatórios. Este, é mais preciso, porém, mais lento (PEIXOTO et al., 2006). O Núcleo MOET multiplica os animais de maior potencial genético pela múltipla ovulação seguida de transferência de embriões e se caracteriza por sua rapidez na identificação de animais geneticamente superiores e sua alta intensidade de seleção (BRUNELI et al., 2017). Proposto por Nicholas & Smith (1983), o esquema de Núcleo MOET tem como uma de suas principais vantagens o levantamento genético inicial para identificação da superioridade genética dos pais e o intervalo reduzido de gerações, uma vez que os touros são avaliados precocemente. Este esquema permite um aumento da taxa de progresso genético, embora haja risco de aumento do coeficiente de endogamia, com prejuízos à sobrevivência, fertilidade e produção, uma vez que o núcleo é formado por uma pequena amostra da população e o esquema favorece a seleção de família. Normalmente, metade do tempo requerido na avaliação pela progênie é requerido pelo Núcleo MOET (PENNA et al., 1998). Considerando os benefícios deste esquema, o primeiro núcleo MOET de seleção, foi criado no Brasil em 1994 para o gado Guzerá, com o objetivo principal de acelerar o progresso genético nos rebanhos da raça (PEIXOTO et al., 2006). Decorridos quase 25 anos da implantação do Núcleo MOET, o presente estudo tem como objetivo avaliar a eficiência do Núcleo MOET de Seleção na Raça Guzerá (BRUNELI et al., 2017).

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados foram provenientes de 174 famílias com 967 irmãos completos geradas no período de 1993 à 2013 no núcleo MOET, sendo 503 machos e 464 fêmeas, das quais 373 tiveram sua primeira lactação em condições padronizadas e realistas, ou seja, a pasto com baixo uso insumos. A média de irmãos completos por família foi igual a 6 ± 3 (2-18). Os coeficientes de endogamia foi calculado no programa ENDOG (GUTIERREZ et al., 2005). As médias anuais de produção de leite e de sólidos, e dos coeficientes de endogamia e de parentesco foram obtidas usando os procedimentos disponíveis no pacote computacional SAS® (SAS, 2012) Da mesma forma, foram obtidas as médias das DEPs dos animais do MOET, estimadas nas avaliações genéticas realizadas anualmente pelo PNMGuL (BRUNELI et al., 2017). As estimativas são obtidas da solução das equações dos modelos mistos, incluindo a matriz de parentesco, que permite a obtenção dos melhores preditores lineares não-viesados (BLUP) usando o algoritmo MTDFReML (BOLDMAN et al., 1995). Foram incluídos dados de lactações de primeira a quinta ordem, sendo que lactações de segunda a quinta ordem só foram incluídas se a vaca tinha a primeira lactação aferida. Estes dados foram provenientes de 114 rebanhos puros e mestiços, participantes do teste de progênie e do PMGZ/ABCZ, e do rebanho do Núcleo MOET. As curvas de tendência foram obtidas pela regressão dos valores médios no ano de nascimento dos animais, usando o pacote Microsoft Excel.

Resultados e Discussão

A média do coeficiente de endogamia no núcleo foi $0,006 \pm 0,015$ no período estudado. Este valor está abaixo do observado (0,009) por Peixoto et al. (2010), revelando valores aceitáveis para este parâmetro, ou seja, pouco prejudiciais ao desempenho do rebanho. As produções médias de leite e de sólidos em 305 dias foram, respectivamente, 2359 ± 754 (382 - 5173) e $208,3 \pm 161,3$ (31,5 - 566,7). As médias destas características obtidas da base de dados do PNMGuL no último ano foram, respectivamente, 2276 ± 1163 kg e 243 ± 111 kg (BRUNELI et al., 2017). As médias de produções de leite e de sólidos das vacas do Núcleo diferiram significativamente ($P < 0,05$) das médias gerais dos rebanhos participantes do PNMGuL. A diferença observada entre as médias de produção de leite pode ser devida a fatores ambientais e genéticos. Do ponto de vista genético, pode ser devida ao fato de que, para integrar o Núcleo, são selecionados, majoritariamente, animais geneticamente superiores. Já a menor média de sólidos para as vacas do Núcleo pode ser atribuída à seleção com foco na produção de leite e à correlação genética entre produção de leite e de sólidos não ser igual a um. A resposta correlacionada na produção de sólidos, portanto, não ocorreu na mesma intensidade. Observa-se a existência de flutuação anual no coeficiente médio de endogamia, revelando que a prática de endogamia ocorre no rebanho do Núcleo, apesar do esforço em se planejar os acasalamentos buscando minimizar a endogamia. Os decréscimos observados, porém, sugerem que após acasalamentos endogâmicos busca-se prontamente evitá-los, além da prática de incluir no Núcleo

animais de origem distinta e até mesmo sem conhecimento de seu potencial produtivo ou genético para características de interesse. Desta forma, concorre-se para manutenção da variabilidade genética. Foi verificada tendência de incremento anual (0,05%) das médias de coeficiente de endogamia (Figura 1). Valor, este, considerado baixo, mas que requer, porém, monitoramento contínuo.

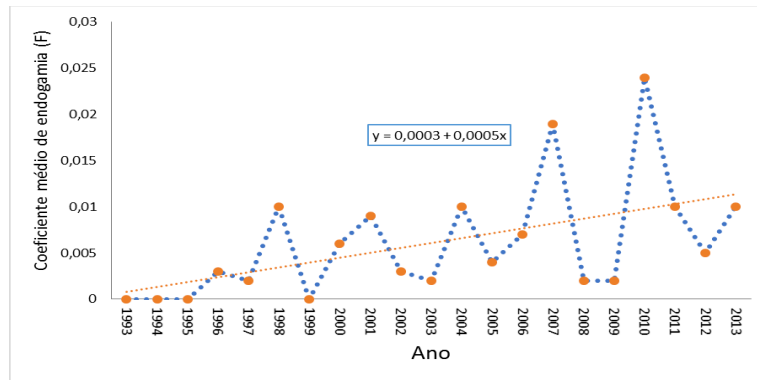


Figura 1. Evolução do coeficiente médio de endogamia de animais gerados no Núcleo MOET de seleção na raça Guzerá.

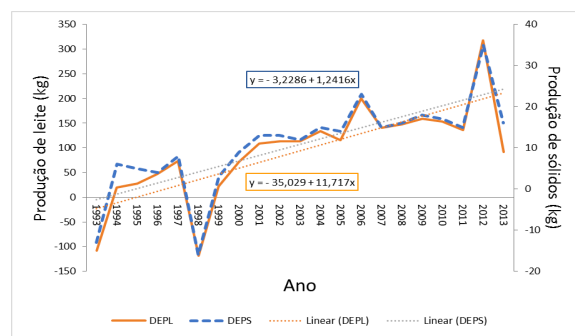
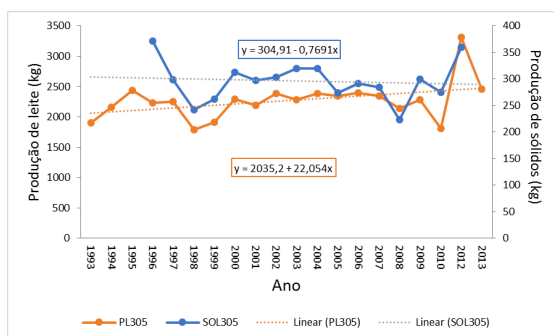


Figura 2. Tendência fenotípica da produção de leite e de sólidos de animais gerados no Núcleo MOET de seleção da raça Guzerá.

Figura 3. Tendência genética de DEP leite e DEP sólidos de animais gerados no Núcleo MOET de seleção da raça Guzerá.

A tendência fenotípica para produção de leite foi +22 kg/ano e para sólidos -0,8kg/ano (Figura 2). A mudança nas médias anuais de produção de leite pode decorrer de fatores ambientes e genéticos. No caso do Núcleo, como o ambiente é padronizado, a maior parte da mudança foi, provavelmente, devida ao fator genético, pela seleção baseada no mérito produtivo para leite dos pais a comporem as famílias. A tendência para produção de sólidos pode ser considerada praticamente nula, uma vez que esta característica não é alvo de seleção e a correlação genética entre as produções de sólidos e leite não é perfeita. As médias de DEP para produção de leite e de sólidos oscilaram ano a ano (Figura 3). Verificou-se, porém, tendência genética positiva nas médias de DEP destas características, sendo 12 kg leite/ano (0,6% da média) e 1,2kg sólidos/ano (0,4% da média). Este resultado explica, portanto, grande parte da mudança nas médias fenotípicas da produção de leite no rebanho do Núcleo. Peixoto et al. (2006), em estudo com os dados do núcleo MOET encontrou tendência genética de 36,46 kg/ano. Este valor está acima do verificado neste estudo. O resultado dos autores, porém, abrange período mais curto e inclui, praticamente, o salto genético inicial, ou seja, o período de maior pressão na escolha dos animais ao início do Núcleo quanto à superioridade produtiva e genética.

Conclusões

O estudo revelou que o esquema de seleção do Núcleo de MOET foi eficiente em produzir animais de mérito genético elevado, ainda que aquém do possível, para o melhoramento da produção de leite dos rebanhos da raça Guzerá, sem, no entanto, acarretar aumento expressivo no coeficiente de endogamia.

Agradecimentos

À Embrapa pela oportunidade de estágio e todo apoio para meu desenvolvimento acadêmico. A equipe de apoio técnico e administrativo da Embrapa. Ao CNPq pela concessão da bolsa. Especialmente à minha orientadora Dra. Maria Gabriela e aos Doutores Frank, Cláudio e Glaucyana.

Referências

BOLDMAN, K.G.; KRIESE, L.A.; VAN VLECK, L.D. **A manual for use of MTDREFML: a set of programs to obtain estimates of variance and covariance**. Lincoln: Department of Agriculture, 1995.

BRUNELI, F.A.T.; PEIXOTO, M.G.C.D.; SANTOS, G.G.D. **Programa Nacional de melhoramento do Guzerá para Leite: resultados do Teste de Progênie, do programa de Melhoramento Genético de Zebuínos da ABCZ e do Núcleo MOET**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2017. 70p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 201).

GUTIERREZ, J.P.; GOYACHE, F. A note on ENDOG: a computer program for analyzing pedigree information. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v.122, p. 172-176, 2005.

NICHOLAS, F. W.; SMITH, C. Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. **Animal Science**, v.36, p.341-353, 1983.

PEIXOTO, M.G.C.D.; VERNEQUE, R.D.S.; TEODORO, R.L.; PENNA, V.M. Genetic Trend for milk yield in Guzerat herds participating in progeny testing and MOET nucleus schemes. **Genetic and Molecular research**, v.5, p.454-465, 2006.

PEIXOTO, M.G.C.D.; POGGIAN, C.F.; VERNEQUE, R.S. et al. Genetic basis and inbreeding in the Brazilian Guzerat (*Bos indicus*) subpopulation selected for milk production. **Livestock Science**, v. 131, p.168-174, 2010.

PENNA, V.M., MADALENA, F.E.; ALVIM, M.T.T. Open MOET nucleus of selection in Guzerá. In: WCGALP, 6, 1998, Armidale. **Anais**. Armidale: WCGALP, 1998.

SAS - Statistical Analysis Systems Institute (SAS). SAS/STAT. SAS Systems for Windows. Release 9.4. SAS Cary: Institute Inc., 2012.

Identificação de portadores de alelos recessivos para três doenças hereditárias: CVM, BLAD e DUMPS em touros da Raça Girolando¹

Sane Neves Barbosa^{2,3}, Hyago Passe Pereira⁴, Rosana Isabel da Costa Nascimento^{3,5}, Kevin Schefer dos Santos^{2,3}, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁶, Marco Antonio Machado^{7,8}, Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva^{7,8}, João Cláudio do Carmo Panetto⁷, Marta Fonseca Martins^{7,8,9}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio financeiro parcial do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto “Estratégias de melhoramento genético para as raças Gir Leiteiro, Guzerá, Sindi e Girolando em sistemas sustentáveis de produção de leite”, liderado por João Cláudio do Carmo Panetto.

²Bolsista PIBIC CNPq/ Embrapa. E-mail: sanenev.sn@gmail.com, kkflajf@gmail.com

³Graduando em Ciências Biológicas - CES-JF. E-mail: rosana.costa_nascimento@yahoo.com.br

⁴Mestrando em Ciências Biológicas - UFJF, Juiz de Fora/MG. E-mail: hyago9295@gmail.com

⁵Estagiária, Embrapa Gado de Leite - Juiz de Fora/MG

⁶Analista, Embrapa Gado de Leite. E-mail: daniele.reis@embrapa.br

⁷Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. E-mail: marco.machado@embrapa.br,

marcos.vb.silva@embrapa.br, joao.panetto@embrapa.br, marta.martins@embrapa.br

⁸ Bolsista de Produtividade CNPq

⁹Orientador

Resumo: Em parceria com a Embrapa Gado de Leite, a Associação Brasileira dos Criadores de Girolando (Girolando) criou o Teste de Progênie em 1997 com o objetivo de orientar a seleção de animais geneticamente superiores. Além da avaliação genética para produção de leite e idade ao primeiro parto, são divulgados anualmente no Sumário de Touros, os genótipos de touros para genes associados a características de produção e também para doenças hereditárias. Assim esse trabalho teve como objetivo a genotipagem de 90 touros integrantes do Teste de Progênie da Raça Girolando para as três principais doenças hereditárias presentes em bovinos: Deficiência da Adesão Leucocitária Bovina (BLAD), Deficiência da Uridina Monofosfato Sintase (DUMPS) e Complexo de Má Formação Vertebral (CVM). O presente estudo foi realizado utilizando métodos de PCR, aplicados em amostras de DNA extraídas com protocolo de extração de DNA Fenol - Clorofórmio - Álcool isoamílico. Foi identificado a presença de apenas dois animais portadores do alelo de CVM e nenhum portador dos alelos causadores das demais doenças.

Palavras-chave: Doenças genéticas. PCR. Teste de progênie.

Identification of carriers of recessive alleles for three hereditary diseases: CVM, BLAD and DUMPS in bulls of breed Girolando

Abstract: In partnership with Embrapa Gado de Leite, the Associação Brasileira dos Criadores de Girolando (Girolando) created the Progeny Test in 1997 with the objective of guiding the selection of genetically superior animals. In addition to the genetic evaluation for milk production and age at first calving, the genotypes of bulls have published in the Sire Summary for genes associated with production characteristics and for hereditary diseases. The objective of this work was the genotyping of 90 bulls belonging to the Girolando Progeny Test for the three main hereditary diseases present in bovine: Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency (BLAD), Uridine Monophosphate Synthase Deficiency (DUMPS) and Bad Complex Vertebral Formation (CVM). The present study was performed using PCR methods, applied in DNA samples extracted with protocol extraction of DNA Phenol - Chloroform - Isoamyl alcohol. It was identified the presence of only two animals carrying the CVM allele and no carriers of the alleles causing the other diseases.

Introdução

A Girolando (Associação Brasileira dos Criadores de Girolando) em parceria com a Embrapa Gado de Leite implantou o Teste de Progênie com o objetivo de identificar animais

superiores produtivamente, e orientar a multiplicação genética desses animais (BRASIL, S.D.; CEMBRANELLI, S.D.). Anualmente são divulgados os resultados de avaliação genética de vacas e touros para características de produção, utilizando metodologia tradicional. As informações genotípicas, obtidas por técnicas moleculares, começaram divulgadas a partir de 2008.

Com o desenvolvimento e popularização das metodologias moleculares, a genotipagem dos animais tornou-se comum entre os criadores de bovinos. Hoje há vários testes disponíveis no mercado, como para genes de importância econômica, como proteínas do leite e para a identificação de animais portadores para alelos associados a doenças genéticas. Assim os criadores, de posse dessa informação podem planejar os cruzamentos em seus rebanhos e, assim, escolher os animais a serem acasalados para dar origem a uma nova geração de animais superiores (GIROLANDO, 2017).

Assim, o objetivo desse trabalho foi identificar a presença de animais portadores de alelos das três principais doenças hereditárias autossômicas recessivas em bovinos: Deficiência da Uridina Monofosfato Sintase (DUMPS), o Complexo de Má Formação Vertebral (CVM) e a Deficiência de Adesão Leucocitária Bovina (BLAD) em uma amostra de touros da Raça Girolando participantes do teste de progênie.

DUMPS é uma doença autossômica recessiva causada por uma mutação no códon 405 do gene UMP, que codifica a uridina monofosfato sintetase. Esta mutação gera uma total deficiência dessa molécula, que é responsável pela modificação do ácido orótico para uridina (THOMSEN et al., 2006). CVM é caracterizada por ter, na maioria dos casos, os doentes abortados, pois são afetados ainda em desenvolvimento fetal. É uma mutação pontual no nucleotídeo 559 do gene SLC35A3 em bovinos, este gene é responsável pela produção da proteína transportadora de UDP-N-acetilglicosamina, que é de grande importância no controle de mecanismos da formação das vértebras (SCHWENGER et al., 1993). Descrita em 1983 como uma doença autossômica recessiva em animais da raça Holandesa, BLAD é causada por mutação que se encontra no gene CD18, que codifica a subunidade proteica $\beta 2$ que integra o complexo maior glicoproteico leucocitário, essa mutação gera uma expressão reduzida do complexo glicoproteico leucocitário, resultando na não realização da migração e fagocitose nos locais de infecções bacterianas caso elas ocorram, já que os leucócitos em indivíduos com duplos alelos recessivos para BLAD não aderem às paredes dos vasos sanguíneos (HAGEMOSER et al., 1986; SHUSTER, 1992).

Material e Métodos

Nesse trabalho foi realizada a genotipagem de touros da raça Girolando em amostras de 90 animais, das quais 80 foram testadas para BLAD, 82 para CVM e 79 para DUMPS. Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Genética Molecular Dr. Mário Luiz Martinez, que se encontra na sede da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, MG. As amostras de sangue e sêmen tiveram o DNA extraído a partir do protocolo de Extração de DNA Fenol - Clorofórmio - Álcool isoamílico (SAMBROOK et al., 2001).

Para o PCR de CVM foram utilizados os *primers* descritos em Ghanem et al., 2008, para a amplificação dos alelos relacionados à doença BLAD foi usado os *primers* descritos em Shuster et al., 1992 e para DUMPS os *primers* descritos em Schwenger et al., 1993.

Foi usada para a digestão enzimática de BLAD a enzima de restrição HAE III (5 U) (SHUSTER et al., 1992) e na digestão enzimática de DUMPS foi usada a enzima de restrição AVA I (3U) (SCHWENGER et al., 1993). Os genótipos determinados e o tamanho dos fragmentos visualizados nos géis são descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Tamanhos de fragmentos para a determinação de genótipos para doenças autossômicas recessivas CVM, DUMPS e BLAD.

Doença	Genótipos	Tamanho dos fragmentos (pb)		
CVM	TV (não portador)	-	395	
	CV (portador)	395	395	
	CVM (doente)	395	-	
DUMPS	TD (não portador)	-	53	36
	DP (portador)	89	53	36
	DUMPS (doente)	89	-	-
BLAD	TL (não portador)	49		
	BL (portador)	49	30	19
	BLAD (doente)		30	19

Resultados e Discussão

Foi constatada ausência de animais portadores de DUMPS, de 82 animais selecionados para genotipagem de CVM apenas dois deles possuem o alelo para a doença e nenhum dos 80 animais selecionados para genotipagem possuem o alelo causador de BLAD (Tabela 2). Em estudo feito por Mendonça et al. (2015) foram encontrados 17 animais (vacas e touros Girolando) que possuem o alelo mutante para CVM e destes 4 eram touros, porém em 259 touros testados para DUMPS e BLAD nenhum apresentou alguma das mutações. Em outro trabalho realizado com animais indianos da raça holandesa também não houve nenhum portador da mutação UMPS (PATEL, 2006). Rezaee (2009) não identificou em nenhum dos touros testados em seu trabalho com animais iranianos da raça holandesa os alelos mutantes para as doenças.

Paiva (2013) encontrou apenas um touro e cinco vacas heterozigotos para a doença CVM em um estudo feito com 777 animais da raça Girolando, e vale ressaltar que três dessas vacas eram filhas do touro portador encontrado no estudo.

Tabela 2. Genótipos e números de animais encontrados para cada um deles.

Doença	Genes	Genótipo	Nº Animais
CVM	SLC35A3 ¹	TV	80
		CV	2
BLAD	CD18 ²	TL	80
		BL	0
DUMPS	UMPS ³	TD	79
		DP	0

¹Genótipos para o gene SLC35A3: TV = animal homozigoto, não portador do alelo para CVM; CV = animal heterozigoto, portador do alelo para CVM. ²Genótipos para o gene CD18: TL = animal homozigoto, não portador do alelo para BLAD; BL = animal heterozigoto, portador do alelo para BLAD. ³Genótipos para o gene UMPS: TD = animal homozigoto; não portador do alelo para DUMPS; DP = animal heterozigoto, portador do alelo para DUMPS.

Conclusões

O objetivo de identificar animais da raça Girolando que fossem portadores de alelos causadores de três principais doenças autossômicas recessivas encontradas em bovinos foi alcançado, revelando o resultado de apenas dois, dos 90 animais, serem portadores da doença CVM e nenhum ser portador das doenças BLAD e DUMPS.

Agradecimentos

À equipe do Laboratório de Genética Molecular da Embrapa pela ajuda, apoio e oportunidade. CNPq e Embrapa pelo financiamento do projeto.

Referências

- BRASIL. Embrapa gado de leite. **Programa Nacional de Melhoramento do Girolando. S.D.** Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-produtos-processos-e-servicos/-/produto-servico/1410/programa-nacional-de-melhoramento-do-girolando>>. Acesso em: 20 maio 2017.
- GHANEM, M.E.; AKITA, M.; SUZUKI, T.; KASUGA, A.; Complex vertebral malformation in Holstein cows in Japan and its inheritance to crossbred F1 generation. **Anim. Reprod. Sci.** v.103, p. 348-354, 2008.
- GIROLANDO (Brasil). **Girolando - a raça mais versátil do mundo tropical.** 2017.IBGE. PPM: **Rebanho bovino alcança a marca recorde de 215,2 milhões de cabeças, mas produção de leite cai 0,4%. 2016.**
- HAGEMOSER, W., ROTH, J. LOFSTED, J. FAGERLAND, J. **Granulocytopathy in a Holstein heifer.** Journal of the American Medical Association, v. 183, p.1093-1094, 1983.
- MENDONÇA, J. F. M., et al. **Análise das frequências alélicas e genótípicas dos genes para BLAD, DUMPS e CVM em animais da raça girolando.** 1º Congresso Internacional da raça Girolando. 2015.
- PAIVA, D. S. et al. Incidência da doença CVM em bovinos da raça Girolando. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá, SP. **Resumo...** . [Juiz de Fora, MG]: Sbg, 2010. p. 21 - 21.
- PATEL, R. K. et al. Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian Holstein cattle. **Journal of applied genetics**, v. 47, n. 3, p. 239-242, 2006.
- POLIDO, P. B. et al. Marcadores moleculares aplicados no melhoramento genético de bovinos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 161-169, 2012.
- REZAEI, A. R. et al. Implication of complex vertebral malformation and deficiency of uridine monophosphate synthase on molecular-based testing in the Iranian Holstein bulls population. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 22, 2009.
- SAMBROOK, J. RUSSELL; RUSSELL, DAVID W. DW. 2001 Molecular cloning: a laboratory manual. **Quarterly Review of Biology**, v. 76, n. 3, p. 348-349, 2001.
- SCHWENGER, B.; SCHÖBER S.; SIMON D. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. **Genomics**, v.16, p. 241-244, 1993.
- SHUSTER, D. E.; Kehrlí, M. E. Jr.; Ackermann, M.R.; Gilbert, R.O. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v.89, p. 9225-9229, 1992.
- THOMSEN, Bo et al. A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. **Genome research**, v. 16, n. 1, p. 97-105, 2006.
- ZOCCAL, R. **Alguns números do leite.** 2016. Revista On-line Balde Branco.

Indicadores fisiológicos e absorção de Ca, Fe e Mg em plântulas de azevém anual tratadas com reguladores do crescimento¹

Lucas Prudêncio Eiterer², Jemima Gonçalves da Fonseca³, Cristiano Amâncio V. Borges⁴, Andréa Mittelmann⁵, Júlio Cesar J. da Silva⁶, Leônidas Paixão Passos^{5, 7}

¹O presente trabalho foi apresentado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto “Melhoramento de gramíneas forrageiras de clima temperado: azevém e capim-lanudo”, liderado por Andréa Mittelmann.

²Graduando em Ciências Biológicas - CES/Juiz de Fora. Bolsista Embrapa. E-mail: lucaseiterer@gmail.com

³Doutoranda em Química - UFJF, Juiz de Fora/MG. Bolsista da Capes. E-mail: jemimagoncalves@yahoo.com.br

⁴Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: cristiano.borges@embrapa.br

⁵Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. E-mail: andrea.mittelmann@embrapa.br

⁶Professor, Departamento de Química, UFJF, Juiz de Fora/MG. E-mail: julio.silva@ufjf.edu.br

⁷Orientador. E-mail: leonidas.passos@embrapa.br

Resumo: No melhoramento genético vegetal, a triagem rápida e precoce de genótipos tem assumido crescente importância. Um problema recorrente tem sido a baixa produção de biomassa, a qual impede a realização de análises dependentes de maior quantidade de amostra. Assim, um estudo foi conduzido visando aumentar a produção rápida de biomassa de plântulas de azevém anual, por meio da exposição das raízes aos seguintes reguladores do crescimento: ácido giberélico, ácido indolacético, adenina e 2,4-D. Após 30 dias de crescimento, as plântulas foram colhidas e avaliadas quanto a indicadores fisiológicos (área foliar, comprimento médio da folha, pesos fresco e seco de folhas e de raízes, taxa transpiratória e teor de clorofila) e à absorção de Ca, Fe e Mg. Não foram detectadas diferenças significativas nas variáveis investigadas, mas observou-se que a absorção de Mg acompanha a absorção de Ca, resposta a qual deve beneficiar as estratégias de manejo nutricional. Abordagens futuras devem levar em consideração um maior número de ensaios e verificar se o período de avaliação de 30 dias necessita ser aumentado, para viabilizar quantidades adequadas de amostras.

Palavras-chave: azevém anual, cálcio, ferro, magnésio, reguladores do crescimento

Physiological indicators and uptake of Ca, Fe and Mg in Italian ryegrass seedlings treated with growth regulators

Abstract: In plant breeding programs, early and rapid screening of genotypes has been reaching growing importance. A recurrent problem has been the low biomass production, which prevents the performance of analyzes dependent on a larger amount of sample. Thus, a study was conducted to increase the rapid production of biomass in Italian ryegrass seedlings by exposing the roots to the following growth regulators: gibberellic acid, indoleacetic acid, adenine and 2,4-D. Following a 30-day-growth period, the seedlings were harvested and evaluated for physiological indicators (leaf area, mean leaf length, leaf and root FW and DW, transpiration rate, and chlorophyll content) and uptake of Ca, Fe and Mg. No significant differences were detected in the investigated variables, but it was observed that Mg uptake accompanies Ca uptake, a find which is likely to benefit nutritional management strategies. Future approaches should take into account a greater number of trials and verify whether the 30-day-evaluation period needs to be increased, in order to enable adequate quantities of samples.

Keywords: calcium, growth regulators, iron, Italian ryegrass, magnesium

Introdução

Métodos para a triagem rápida e precoce de genótipos vegetais, principalmente visando tolerância a estresses abióticos, têm assumido grande importância em anos recentes (SILVA et al., 2007; BANDURSKA et al., 2011). No entanto, a baixa produção de biomassa nessas

avaliações, devido à execução em prazos relativamente pequenos, impede a realização de análises que dependam de maior quantidade de amostra. Nesse contexto, a aplicação de reguladores do crescimento apresenta-se como alternativa promissora para mitigar o problema, particularmente pela promoção do crescimento radicular em curto espaço de tempo (OVERVOORDE et al., 2010). Estudos no assunto destacam também as interações entre reguladores do crescimento e os teores de Ca (PANDEY, 2017), Fe (SCHMIDT et al., 2000) e Mg (NIU et al., 2015), as quais podem ser exploradas para melhorar as taxas de crescimento.

Em virtude de tais premissas, o presente trabalho avaliou os efeitos de quatro reguladores do crescimento (ácido 2,4-diclorofenoxiacético – 2,4-D, adenina – ADE, ácido giberélico – GA₃, e ácido indolacético – AIA) sobre indicadores fisiológicos e absorção de Ca, Fe e Mg em azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.), objetivando aumentar a produção rápida de biomassa.

Material e Métodos

Plântulas de azevém anual cv. BRS Ponteio foram cultivadas em condições controladas (25 ± 4 °C, 65 ± 5% U.R., 14 h fotoperíodo e 200 μmol. m⁻². s⁻¹ de radiação ativa, medida com espectrorradiômetro portátil LI-COR LI-189 com sensor quântico LI-190SA) em potes com solo orgânico e suprimento de solução nutritiva por capilaridade, com exposição aos seguintes reguladores do crescimento (50 mg.L⁻¹), diluídos em solução de Hoagland em 1/2 força: ADE, AIA, 2,4-D e GA₃, juntamente com uma testemunha - TEST (solução de Hoagland). As soluções foram repostas semanalmente.

Após 30 dias, o experimento foi colhido, efetuando-se as seguintes avaliações: AF - área foliar (cm²) e CF - comprimento médio da folha (cm), com medidor portátil LI-3000A, PFF - peso fresco das folhas, PFR - peso fresco das raízes, PSF - peso seco das folhas e PSR - peso seco das raízes (g), com balança analítica Marte AW220, T - taxa transpiratória (mmol.m⁻².s⁻¹), com porômetro Delta AP4, e CLO - teor de clorofila (SPAD), com medidor Minolta 502. As folhas foram secas em estufa Thecol 130DM a 50 °C e reduzidas em moinho IKA A11. Após, foram transferidas para tubos de vidro calibrados e processadas em bloco digestor Technicon BD-40, em solução nitro-perclórica 3:1 durante 2 h a 200 °C.

Os teores de Ca, Fe e Mg (mg.kg⁻¹) foram determinados em F AAS (espectrômetro de absorção atômica com chama) ThermoScientific Solar M5, com corretor de fundo Deutério (D2). Nas leituras de Ca foram utilizados acetileno e óxido nitroso, e nas leituras de Fe e Mg foram usados acetileno e ar comprimido. Cada medida durou 4s, sendo feita em triplicata. Utilizou-se lâmpadas de cátodo oco monoelementares, operando a 75% da corrente indicada. Nas determinações de Fe e Mg foi utilizado o corretor de sinal de fundo Deutério (D2), conforme Godim (2017). Na tabela 1 são apresentadas as condições empregadas.

Tabela 1. Condições experimentais empregadas no equipamento F AAS.

Analitos	Comprimento de onda (nm)	Fenda espectral (nm)	Corrente da Lâmpada (mA)	Altura do Queimador (mm)	Chama	Vazão do Gás (L.min ⁻¹)
Ca	422,7	0,5	6	11,0	N ₂ O/C ₂ H ₂	4,2
Fe	248,8	0,2	6	7,0	Ar/C ₂ H ₂	1,2
Mg	285,1	0,5	4	7,0	Ar/C ₂ H ₂	1,1

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa SAS versão 9.4, considerando o delineamento inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos (reguladores do crescimento e testemunha), quatro repetições e 10 plantas/parcela. Aplicou-se a transformação logarítmica aos valores da taxa de transpiração e dos teores de Fe e de Mg, pelo fato de os resíduos não terem atendido os pressupostos de normalidade e de homocedasticidade. As médias por tratamento foram comparadas através dos testes de Dunnett e de Tukey. Após, a existência de correlações significativas entre as variáveis estudadas foi verificada por meio do coeficiente de correlação não-paramétrico de Spearman.

Resultados e Discussão

Os reguladores do crescimento não afetaram significativamente as variáveis fisiológicas avaliadas (Tabela 2). Apenas leves tendências de aumento na taxa transpiratória com GA₃ e redução no teor de Mg com a adenina foram observadas.

Tabela 2. Respostas fisiológicas do azevém anual à aplicação de reguladores de crescimento¹.

Tratamento	AF	CF	PFF	PFR	PSF	PSR
GA ₃	80,4 A	38,4 A	2,7 A	0,045 A	0,42 A	0,042 A
Adenina	103,0 A	37,7 A	3,1 A	0,059 A	0,47 A	0,055 A
AIA	93,2 A	35,9 A	3,3 A	0,058 A	0,51 A	0,054 A
2,4-D	58,6 A	35,1 A	1,9 A	0,053 A	0,35 A	0,048 A
TEST	104,7 A	40,2 A	4,3 A	0,081 A	0,65 A	0,075 A

Tratamento	T	CLO	Ca	Mg	Fe
GA ₃	100,8 A	51,0 A	46.258 A	6.973,7 A	137,0 A
Adenina	68,9 A	55,9 A	42.853 A	5.974,8 A	133,5 A
AIA	69,0 A	55,4 A	48.699 A	6.447,9 A	163,6 A
2,4-D	93,5 A	61,0 A	50.768 A	6.255,2 A	117,5 A
TEST	68,6 A	72,2 A	51.449 A	6.962,1 A	147,2 A

¹Em cada variável, as médias não diferiram entre si, pelos testes de Dunnett e de Tukey ($p > 0,05$).

As análises de correlação de Spearman revelaram eventos significativos entre pares de variáveis (Figura 1), sendo mais proeminente a correlação positiva entre a absorção de Mg e a de Ca. Não foram detectadas correlações significativas envolvendo o Fe.

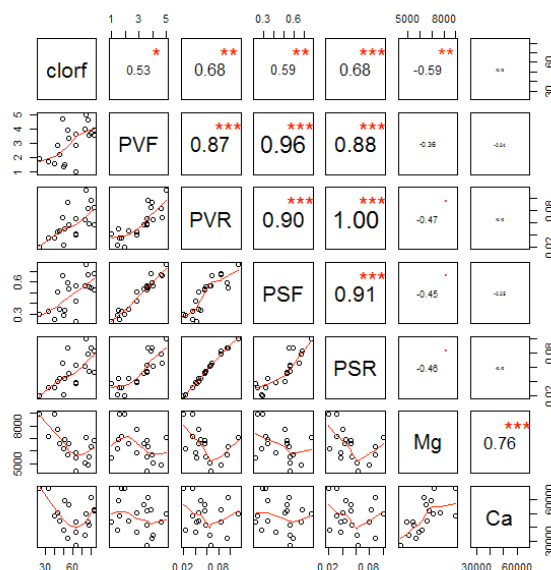


Figura 1. Análises de correlação de Spearman entre pares das variáveis estudadas.

A observada dependência da absorção de Mg em relação à absorção de Ca confirma resultados obtidos com outras espécies (Baligar, 1985) e poderá ser útil em futuras abordagens.

Conclusões

Nas condições estudadas, os reguladores do crescimento não influenciaram os indicadores fisiológicos avaliados e a absorção de Ca, Fe e Mg.

No entanto, descobriu-se que a absorção de Mg é acompanhada pela absorção de Ca, fato que pode ser positivo para o manejo nutricional do azevém anual em estudos doravante.

Visto que os desvios-padrão foram relativamente altos em vários casos, se recomenda que futuros estudos considerem uma maior repetição de ensaios.

De resto, deve-se averiguar se o tempo de 30 dias para as avaliações necessita ser aumentado, para viabilizar produção de biomassa em níveis suficientes para atendimento das análises que demandem maior quantidade de amostra, e assim tornar mais eficaz o processo de triagem precoce e rápida de genótipos de azevém anual objetivando a seleção para tolerância a estresses abióticos.

Agradecimentos

À Embrapa pelo estágio e apoio. Ao Sr. Sebastião de Castro Evaristo pelo apoio no desenvolvimento do experimento.

Referências

- BALIGAR, V. C. Absorption kinetics of Ca, Mg, Na and P by intact corn and onion roots. **Journal of Plant Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 543-554, 1985.
- BANDURSKA, H.; KRZYSZKOWSKA, J.; MOLINSKI, K.; ZIELEZINSKA, M. A method of early selection of cucumber genotypes insensitive to chilling based on data mining. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v. 10, p. 225-233, 2011.
- GODIM, T.; GUEDES, J.; RIBEIRO, L.; LOPES, G.; MATOS, W. Optimization of a cloud point extraction procedure with response surface methodology for the quantification of dissolved iron in produced water from the petroleum industry using FAAS. **Marine Pollution Bulletin**, 114:786–791, 2017.
- NIU, Y.; JIN, G.J.; LI, X.; TANG, C.; ZHANG, Y.; LIANG, Y.; YU, J. Phosphorus and magnesium interactively modulate the elongation and directional growth of primary roots in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 3841-3854, 2015.
- OVERVOORDE, P.; FUKAKI, H.; BEECKMAN, T. Auxin control of root development. **Cold Spring Harbor Perspective Biology**, v.2, p.1-17, 2010.
- PANDEY, G.K. **Mechanism of plant hormone signaling under stress**. New York: John Wiley & Sons, 2017. p.362-363.
- SCHMIDT, W.; TITTEL, J.; SCHIKORA, A. Role of hormones in the induction of iron deficiency responses in *Arabidopsis* roots. **Plant Physiology**, v. 122, p. 1109-1118, 2000.
- SILVA, M.A.; JIFON, J.L.; SAILVA, J.A.G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.19, p.193-201, 2007.

Partição energética em vacas Girolando sob diferentes níveis de alimentação no terço final da lactação¹

Ana Luisa Mendes dos Santos², Luiz Gustavo Ribeiro Pereira^{3, 7}, Thierry Ribeiro Tomich³, Mariana Magalhães Campos³, Rebeca Ribeiro Silvi⁴, Alexandre Lima Ferreira⁵, Milane Ribeiro Santos⁴, Rogério Martins Maurício⁵, João Paulo Pacheco Rodrigues⁵, João Paulo Sacramento⁶ Fernanda Samarini Machado³

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto “Desenvolvimento e integração de métricas de eficiência alimentar para bovinos leiteiros em sistemas de produção sustentável”, liderado por Fernanda Samarini Machado. Parte da dissertação de mestrado da quinta autora, financiado pela Embrapa

²Graduanda em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Juiz de fora. Bolsista do CNPq. E-mail: ana_lu.mendes@hotmail.com

³Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: thierry.tomich@embrapa.br; mariana.campos@embrapa.br; fernanda.machado@embrapa.br

⁴Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual de Santa Cruz. E-mail: rebecasilvy@yahoo.com.br; milaneribeiro_@hotmail.com

⁵Departamento de Bioengenharia - Universidade Federal de São João Del-Rei. E-mail: axellfire@hotmail.com; rogeriomauricio@ufsj.edu.br; joaopaulo0511@hotmail.com

⁶Doutorando em Bioengenharia - Universidade Federal de São João Del-Rei. E-mail: jparvelos@yahoo.com.br

⁷Orientador. Bolsista do CNPq. Email: luiz.gustavo@embrapa.br.

Resumo: O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do nível de alimentação e da ordem de parição sobre a partição da energia de vacas Girolando. Foram utilizadas 28 vacas com produção média de $15,1 \pm 4,16$ kg de leite e $552 \pm 88,1$ kg de peso vivo. O experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2:2, com dois níveis de alimentação (ad libitum e restrito) e duas ordens de lactação (primíparas e multíparas). A ordem de lactação não afetou ($P > 0,05$) a partição da energia consumida. A restrição alimentar reduziu ($P < 0,001$) o consumo de energia e aumentou a proporção de energia perdida na forma de urina e produção de calor. A razão entre o consumo de energia metabolizável e o consumo de energia bruta (metabolizabilidade) aumentou ($P < 0,001$) com a restrição alimentar. Conclui-se que a metabolizabilidade da energia ingerida por vacas Girolando no terço final de lactação é menor quando em restrição alimentar. Vacas Girolando quando alimentadas de forma restrita possuem maior proporção de energia excretada na urina e perdida na forma de produção de calor.

Palavras-chave: energia digestível, energia metabolizável, metabolizabilidade, metano, produção de calor

Energy partitioning in Girolando cows fed different feeding levels

Abstract: We aimed to evaluate the effects of feeding level and parity on energy partitioning in Girolando cows. Twenty-Eight Girolando cows averaging 15.1 ± 4.16 kg of milk production and 552 ± 88.1 kg of body weight were used. The study was conducted following a complete randomized design in a 2:2 factorial scheme with two feeding levels (ad libitum and restricted) and two parity groups (primiparous and multiparous). Lactation stage did not affect ($P > 0.05$) energy intake. Feeding restriction decreased ($P < 0.001$) energy intake and increased the proportion of energy loss ($P < 0.001$) both as urinary energy and heat production. Metabolizable energy intake to gross energy intake ratio (metabolizability) was greater in cows fed restricted energy diets. In conclusion, gross energy metabolizability in late lactation Girolando cows is lower when fed restricted energy intake. Girolando cows when fed restricted energy intake has greater proportion of energy lost as urine and heat production.

Keywords: digestible energy, metabolizable energy, metabolizability, methane, heat production

Introdução

Os sistemas atuais de predição de exigências de energia para vacas leiteiras são baseados em ensaios de calorimetria indireta, utilizando-se principalmente animais de origem taurina em ambientes de clima temperado (NRC, 2001). No entanto em países tropicais os sistemas de exploração leiteira utilizam com maior frequência vacas mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*), destacando-se cruzamentos entre animais Holandês x Gir (Girolando). Apesar de amplamente utilizadas em propriedades leiteiras brasileiras pouco se conhece a respeito da eficiência alimentar e produtiva desses animais, tornando necessária a avaliação e caracterização do potencial zootécnico dos mesmos sob diferentes planos de alimentação.

Tendo em vista a necessidade de estabelecer parâmetros alimentares e produtivos de vacas Girolando, objetivou-se avaliar e caracterizar a partição de energia em vacas Girolando no terço final da lactação sob diferentes níveis de alimentação.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Campo Experimental José Henrique Bruschi (CEJHB, Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, Brasil). Foram utilizadas 28 vacas leiteiras Girolando (3/4 Holandês - 1/4 Gir), no terço final da lactação (de 200 a 305 dias da lactação), sendo 14 primíparas e 14 multíparas com peso vivo inicial (PVi) de $537 \pm 112,6$ e $577 \pm 35,5$ kg, respectivamente. No início do experimento a produção de leite média de primíparas e multíparas eram de $15,5 \pm 4,35$ e $14,8 \pm 4,10$ kg/dia, respectivamente. Os animais foram distribuídos segundo delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 · 2 (nível de alimentação · ordem de lactação). Os níveis de alimentação avaliados foram *ad libitum* e restrito, sendo que para o tratamento das multíparas com consumo restrito, o fornecimento de dieta foi limitado para atender 80% das exigências de energia líquida totais (Manutença e produção de leite); e para o tratamento das primíparas com consumo restrito, o fornecimento de dieta foi limitado para atender 85% das exigências de energia líquida totais. As dietas *ad libitum* foram formuladas com relação volumoso: concentrado de 74:26, segundo estimativas de exigências do NRC (2001). Os animais foram alimentados diariamente após as ordenhas as 0800 e 1600 horas.

Os animais foram alocados em galpão tipo *freestall* dotado de sistema eletrônico de monitoramento da ingestão individual de alimento (AF-1000 Master Gate, Intergado Ltd., Contagem, MG, Brasil). Foram realizadas coletas de amostras do leite da ordenha da manhã e da ordenha da tarde por animal dos 250 a 253 dias em lactação.

Ensaio de digestibilidade foram realizados com duração de 5 dias em todos os animais, aproximadamente aos 250 ± 6 dias em lactação. As avaliações de respirometria foram realizadas por 48 horas em cada animal, utilizando-se 4 câmaras respirométricas de circuito aberto conforme as especificações e procedimentos descritos por Machado et al. (2016).

As concentrações de energia bruta (EB) das dietas consumidas, fezes e urina foram estimadas através de calorímetro adiabático IKA - C5000. A separação da energia nas frações digestível (ED), metabolizável (EM) e líquida (EL) foi realizada segundo NRC (2001). A concentração energética do CH₄ produzido e produção de calor (PC) foram calculados segundo Brouwer (1965). O balanço energético (BE) total foi calculado pela diferença entre EM e a EL de lactação (EL_L) e a PC, onde: $BE = EM - EL_L - PC$. Foram ainda calculadas as relações entre EM/ED; PC/EM, EL_L/EM e BE/EM como indicadores de eficiência energética.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa MINITAB 17 (MINITAB SOFTWARE, 2010), segundo delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 · 2. Considerou-se o modelo misto, em que os fatores fixos foram a ordem de lactação, nível de alimentação e sua interação. Considerou-se animal aninhado ao tratamento como efeito aleatório. A significância dos fatores avaliados e suas interações foram realizadas considerando-se α igual a 0.05.

Resultados e Discussão

Os resultados de partição energética encontram-se na Tabela 1. Como esperado, o consumo de EB foi influenciado ($P < 0,001$) pelo nível de alimentação, mas o efeito da ordem de lactação não foi significativo ($P > 0,05$). Seguindo o mesmo comportamento, a energia fecal,

urinária, na forma de CH₄, PC e energia do leite, foram afetadas pelo nível de alimentação ($P < 0,001$), sendo superiores para o tratamento *ad libitum*.

Tabela 1. Partição da energia em vacas Girolando no terço final de lactação, em função da ordem de lactação e do nível de alimentação.

Parâmetros ¹	Primípara		Multípara		EPM	P-valor ²		
	<i>Ad libitum</i>	Restrita	<i>Ad libitum</i>	Restrita		OL	NA	OL × NA
Mcal/d								
CEB	76,1	43,6	73,0	43,4	3,11	0,510	<0,001	0,550
E _{Fezes}	21,5	13,4	22,1	13,6	0,95	0,720	<0,001	0,890
E _{Urina}	3,22	2,23	3,35	2,64	0,14	0,275	0,002	0,560
E _{CH₄}	3,41	2,17	3,56	2,11	0,14	0,730	<0,001	0,386
PC	25,4	16,9	23,5	19,1	0,70	0,807	<0,001	0,003
EL _L	16,7	8,7	14,6	7,2	0,87	0,095	<0,001	0,808
BE	5,63	0,09	5,74	-0,20	0,72	0,928	0,001	0,841
%CEB								
E _{Fezes}	28,2	30,6	30,2	31,5	0,58	0,223	0,136	0,643
E _{Urina}	4,32	5,07	4,61	6,06	0,20	0,080	0,004	0,325
E _{CH₄}	4,80	4,51	4,88	4,89	0,10	0,271	0,468	0,484
PC	33,6	39,6	32,3	44,7	1,25	0,316	<0,001	0,098
Mcal/Mcal								
ED/EB	0,71	0,69	0,69	0,68	0,005	0,223	0,136	0,643
EM/EB	0,62	0,58	0,60	0,57	0,006	0,145	0,003	0,390
EM/ED	0,87	0,85	0,86	0,84	0,004	0,059	0,002	0,997
PC/EM	0,53	0,67	0,53	0,77	0,024	0,113	<0,001	0,137
EL _L /EM	0,21	0,20	0,20	0,17	0,008	0,121	0,135	0,692
BE/EM	0,11	-0,01	0,12	-0,07	0,026	0,569	0,001	0,395

¹CEB, consumo de energia bruta; EF, energia bruta fecal; CED, consumo de energia digestível; EU, energia bruta urinária; ECH₄, energia perdida na forma de metano; CEM, consumo de energia metabolizável, EL_L, energia líquida de lactação, BE, balanço energético, CEB, consumo de energia bruta

²OL, ordem de lactação; NA, nível de alimentação; OL × NA, interação entre OL e NA.

Considerando-se a partição energética expressa em porcentagem da EB ingerida, não houve efeito ($P > 0,05$) da ordem de lactação e nível de alimentação sobre a energia fecal, na forma de CH₄ e energia do leite. Já as frações da EB ingerida perdidas na forma de urina e PC foram influenciadas pelo nível de alimentação ($P < 0,004$), sendo maiores para o tratamento restrito. A fração de energia perdida na forma de calor e urina possui maior influência de fatores como o peso metabólico do animal, o que justifica as maiores proporções de perdas energéticas através de urina nos animais com menor consumo de EB (VAN ES, 1976). As maiores perdas de energia na forma de CH₄ para os animais do tratamento *ad libitum* podem ser consequência do maior aporte de substratos para fermentação ruminal. Observa-se que as perdas na forma de CH₄ em relação a EB consumida foram semelhantes entre os níveis de alimentação. O BE foi influenciado pelos níveis de alimentação ($P = 0,001$), sendo positivo (5,7 Mcal/d) para animais em tratamento *ad libitum* e negativo (-0,1 Mcal/d) para as vacas do tratamento restrito.

O valor médio de digestibilidade da EB (ED/EB) foi 0,7 e não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$). A metabolizabilidade da dieta (EM/EB) foi similar ($P > 0,05$) entre primíparas e multíparas, porém diferiu ($P = 0,003$) com o nível de alimentação. A relação entre EM/ED apresentou diferença ($P = 0,002$) em função dos níveis de alimentação, com valores médios de 0,87 para animais *ad libitum* e 0,85 para animais em restrição, mas não houve efeito da ordem de lactação ($P > 0,05$). A EM perdida na forma de calor foi superior para o tratamento restrito (0,72) em relação ao *ad libitum* (0,53). Provavelmente esse efeito é consequência do menor consumo de EB com pouca variação na metabolizabilidade das dietas. No presente estudo, tanto a ordem de lactação quanto o nível de alimentação não influenciaram ($P > 0,05$) a relação EL_L/EM (média de 0,2). A relação BE/EM diferiu entre os níveis de alimentação ($P = 0,001$), sendo em média 0,1 para os animais em consumo livre e 0 para os animais em restrição.

A EL_L em animais alimentados *ad libitum* foi 49% superior em relação a das vacas em restrição. Essa diferença se deve à maior produção de leite, com maiores concentrações de gordura, proteína e lactose (dados não apresentados).

Como a digestibilidade e a perda de energia nas fezes foram semelhantes entre tratamentos, a ED/EB também não foi influenciada. A eficiência de conversão da ED em EM é influenciada pela atividade microbiana, produção de CH_4 , balanço energético e pela eficiência de metabolismo do nitrogênio. Borges et al. 2016 ao compilar dados de trabalhos realizados no Brasil com animais mestiços encontraram valores de aproximadamente 0,82, resultado semelhante ao observado no presente trabalho.

Houve efeito do nível de alimentação sobre a metabolizabilidade da dieta. Segundo Van Es (1976) quando a metabolizabilidade aumenta em uma unidade percentual as exigências de EM para manutenção, produção de leite e ganho de peso em bovinos decresce cerca de 0,4%. A metabolizabilidade nos animais com alimentação restrita foi 2,5% menor para os animais do tratamento *ad libitum*, contrastando com os estudos Blaxter e Boyne (1978), os quais afirmam que a 'q' varia pouco com o nível de alimentação.

Conclusões

A metabolizabilidade da energia ingerida por vacas Girolando no terço final de lactação é semelhante aos valores utilizados em sistemas internacionais de exigências nutricionais e menor quando em restrição alimentar. Vacas Girolando quando alimentadas de forma restrita possuem maior proporção de energia excretada na urina e perdida pela produção de calor.

Referências

BLAXTER, K. L.; BOYNE, A. W. The estimation of the nutritive value of feeds as energy sources for ruminants and the derivation of feeding systems. **The Journal of Agricultural Science**, v.90, p.47-68, 1978.

BORGES, A. L. C. C.; SILVA, R. R.; FERREIRA, A. L.; LAGE, H. F.; VIVENZA, P. A. D.; CARVALHO, P. H. A.; et al. Respirimetria e exigências nutricionais de zebuínos e cruzados de leite, em diferentes níveis de alimentação e estádios fisiológicos. In: VALADADES FILHO et al. (Ed.). **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 3. ed., Viçosa: UFV, DZO, 2016. p.151-162.

BROUWER, E., 1965. Report of sub-committee on constants and factors. In: **Energy metabolism**. Academic Press, London, p.441-443.

MACHADO, F. S. TOMICH, T. R., FERREIRA, A. L., CAVALCANTI, L. F. L., CAMPOS, M. M., PAIVA, C. A. V., RIBAS, M. N., PEREIRA, L. G. R., 2016. Technical note: A facility for respiration measurements in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.4899-4906.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7. ed., National Academic of Sciences, Washington, D.C, 381p.

VAN ES, A. J. H. Factors influencing the efficiency of energy utilization by beef and dairy cattle. In: SWAN, H. and BROSTER, W.H. (Ed.). **Principles of cattle production**. Butterworths: London, 1976. p.237-253.

Perfil de ácidos graxos do leite e do queijo Minas artesanal, com diferentes tempos de maturação, produzido no município de Alagoa¹

Jéssica Cordeiro Queiroz de Souza², Maria de Fátima Ávila Pires³, Nivea Maria Vicentini³,
Fernando Cesar Ferraz Lopes⁴, Marco Antônio Sundfeld da Gama^{3,5}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto “Caracterização do queijo artesanal produzido em municípios inseridos no Corredor Ecológico da Mantiqueira: geração de renda para agricultura familiar e alimento seguro para os consumidores”, liderado por Maria de Fátima Ávila Pires.

²Graduanda em Química - Universidade Federal de Juiz de Fora, MG. Bolsista PIBIC CNPq. E-mail: jessica.cordeiro@ice.ufjf.br

³Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG

⁴Analista, Embrapa Gado de Leite

⁵Orientador. E-mail: marco.gama@embrapa.br

Resumo: O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de ácidos graxos (AG) do leite e do queijo artesanal produzido no município de Alagoa (MG), de forma a contribuir para a futura regularização deste produto no Estado. Amostras de queijo com 0, 7, 14, 21 e 28 dias de maturação e dos leites utilizados na sua produção foram coletadas durante as estações seca e chuvosa em seis propriedades do município de Alagoa. O perfil de AG das amostras foi determinado por cromatografia gasosa. Os teores dos AG no leite variaram em menor ou maior grau entre as propriedades, o que pode ser em parte atribuído às diferentes dietas fornecidas aos animais. Em particular, maiores teores de AG benéficos à saúde humana (C18:3 n-3, CLA c9, τ 11, C18:1 τ 11 e C18:1 c9) foram observados durante a estação chuvosa nas propriedades 4 e 5, nas quais havia disponibilidade de pasto nativo. Maiores teores destes AG foram também observados durante a estação chuvosa, o que é consistente com a maior qualidade nutricional da forragem nesta época do ano. O perfil de AG dos queijos no tempo 0 foi similar ao dos leites utilizado na sua produção, independentemente da propriedade, e não variou significativamente ao longo do período de maturação. Estes resultados indicam que o processo de fabricação dos queijos artesanais de Alagoa não altera o perfil de AG do leite utilizado na sua produção, e que não há influência do período de maturação avaliado sobre esta variável.

Palavras-chave: agricultura familiar, gordura do leite, indicação geográfica, queijos artesanais, saúde humana, vacas leiteiras

Fatty acid composition of milk and Minas artisanal cheese at different ripening times produced in the municipal district of Alagoa

Abstract: The aim of this study was to determine the fatty acid (FA) composition of milk and artisanal cheese produced in the municipality of Alagoa (MG), as part of an effort to contribute to future regularization of this product in the state of Minas Gerais. Samples from cheese with different ripening times (0, 7, 14, 21, and 28 d) and from the milk used in its production were collected during both dry and rainy seasons in six farms located in Alagoa. The FA composition of the samples was determined by gas chromatography. The contents of milk FA varied to a lesser or greater extent among the farms, which may be attributed in part to the different diets provided to the animals. In particular, increased milk contents of beneficial FA (C18:3 n-3, CLA c9, τ 11, C18:1 τ 11 e C18:1 c9) were found during the rainy season in farms 4 and 5 where native pasture was available for grazing. Higher contents of beneficial FA were also found in milk during the rainy season, which is consistent with the higher nutritional quality of forages in that period of the year. The FA composition of cheeses at day 0 of ripening was similar to that found in milk used in its production regardless of the farm, and did not vary significantly over the 28-d ripening period. These results indicate that the process used for artisanal cheese making in Alagoa does not alter the FA composition of milk used in its production, and that cheese FA composition is unchanged over the ripening period.

Keywords: artisanal cheeses, dairy cows, family-based agriculture, geographical origin, human health, milk fat

Introdução

A produção de queijo artesanal constitui a principal fonte de renda para a agricultura familiar em diversas regiões do Brasil. Em 2002, o Governo de Minas Gerais sancionou a Lei Estadual nº 14.185, que dispunha sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal. Esta Lei considerava como artesanal o queijo produzido em microrregiões tradicionais a partir de leite cru, beneficiado na queijaria da propriedade de origem, sem técnicas industriais. Até 2012, apenas os queijos produzidos nas regiões de Araxá, Canastra, Cerrado, Serro e Campo das Vertentes eram reconhecidos como artesanais. No entanto, com a aprovação da Lei Estadual nº 20.549 em dezembro de 2012, os produtores de queijos artesanais não inseridos nas regiões tradicionais mencionadas acima passaram a ter o direito de solicitar ao Estado o reconhecimento dos seus queijos como do 'tipo' artesanal. Um exemplo notório são os queijos produzidos nos municípios de Alagoa e Carvalhos, localizados no 'Corredor Ecológico da Mantiqueira', uma região que apresenta características de clima, vegetação e modo de produção bastante próprias (SIQUEIRA, 2011). O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de ácidos graxos (AG) do leite e do queijo artesanal, com diferentes tempos de maturação, produzido no município de Alagoa. Este estudo é parte de um projeto que tem como uma das etapas caracterizar o queijo artesanal produzido nos municípios de Alagoa e Carvalhos visando, em última análise, a regularização e a concessão de indicação geográfica ao produto.

Material e Métodos

Amostras de queijo artesanal com diferentes tempos de maturação (0, 7, 14, 21 e 28 dias) e dos leites utilizados na sua produção foram coletadas nas estações seca (maio-junho) e chuvosa (outubro-novembro), em 2016, em seis propriedades do município de Alagoa, MG. As amostras foram congeladas e enviadas ao Laboratório de Cromatografia da Embrapa Gado de Leite para determinação do perfil de AG por cromatografia gasosa (GC). A fração lipídica do leite foi extraída utilizando-se uma mistura de hidróxido de amônio, etanol, éter etílico e hexano (AOAC official method 989.05), ao passo que a extração lipídica do queijo foi realizada utilizando-se uma mistura de hexano e isopropanol (3:2 vol/vol) seguido da adição de solução de sulfato de sódio (HARA & RADAN, 1978). Os lipídios extraídos foram dissolvidos em hexano e metil acetato e transesterificados em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) utilizando-se uma solução de metóxido de sódio em metanol (CHRISTIE, 1982). Os FAME foram separados e quantificados em cromatógrafo a gás (modelo 7820A, Agilent Technologies) equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida (CP-Sil 88, 100 m × 0.25 mm × 0.2 µm film thickness; Varian Inc.). As condições de operação do equipamento foram as mesmas descritas por Cruz-Hernandez et al. (2007). Os AG foram identificados por comparação dos tempos de retenção com padrões comerciais (Sigma-Aldrich®, Nu-Chek Prep, Inc.) e de acordo com a ordem de eluição reportada sob as mesmas condições cromatográficas (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007).

Resultados e Discussão

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram as variações observadas nos teores dos principais AG do leite de interesse para a saúde humana nas seis propriedades avaliadas, durante as estações seca e chuvosa. Diversos estudos têm mostrado que os teores de C18:3 n-3, CLA *c9,t11* e C18:1 *t11* no leite são superiores em vacas alimentadas com forragens frescas, sendo as respostas variáveis em função da qualidade nutricional e do tipo de forragem utilizada (DEWHURST et al., 2006). A análise das dietas mostrou ampla variação na qualidade do volumoso fornecido aos animais nas diferentes propriedades, o que explicaria ao menos parte a variação observada no perfil de AG do leite observada. Levantamento realizado neste estudo mostrou também que os pastos disponíveis nas propriedades 4 e 5 eram nativos, o que pode ter contribuído para os teores mais elevados de C18:3 n-3 e CLA *c9,t11* observados no leite dos animais destas propriedades durante a estação chuvosa (ELGERSMA, 2015). Além da disponibilidade ou não de pasto nativo e variações na qualidade da forragem, foram encontradas também diferenças entre propriedades quanto ao tipo de gramínea utilizada (ex.: capim elefante,

braquiária, cynodon, cana de açúcar), forma de fornecimento (ex.: capineira, pasto, silagem) e composição do concentrado, os quais também afetam o perfil de AG do leite (SHINGFIELD et al., 2008). A Tabela 2 mostra variações de pequena magnitude ($CV < 2\%$) nos teores dos principais AG de interesse à saúde ao longo do período de maturação do queijo produzido pelo produtor 1 durante as estações seca e chuvosa, respectivamente, o que também foi observado nas demais propriedades e para os outros AG detectados, indicando que o perfil de AG dos queijos não foi alterado durante o período de maturação. Por fim, a elevada correlação ($r = 0,99$) observada entre os teores dos AG dos queijos no tempo 0 e dos leites utilizados na sua produção, independentemente da propriedade, indicam que o perfil de AG da matéria-prima (i.e. leite) não é alterado no processo de fabricação do queijo.

Tabela 1. Teores dos principais AG de interesse para a saúde humana no leite dos animais em seis propriedades do município de Alagoa, durante as estações seca e chuvosa.

	Ácidos Graxos (g/100g AG totais)	Produtor						Média	CV (%)
		1	2	3	4	5	6		
Estação Seca	C16:0	28,5	33,0	31,8	26,1	28,5	29,9	29,6	8,40
	C18:1 <i>t</i> 11	1,93	1,94	1,21	1,76	1,70	1,23	1,63	20,3
	C18:1 <i>c</i> 9	19,5	19,3	18,7	21,9	19,8	18,8	19,7	6,04
	C18:3 <i>n</i> -3	0,36	0,30	0,25	0,35	0,28	0,27	0,30	14,7
	CLA <i>c</i> 9, <i>t</i> 11	0,89	0,84	0,69	1,00	0,80	0,66	0,81	15,8
Estação Chuvosa	C16:0	29,4	25,0	28,2	25,0	22,6	26,3	26,1	9,39
	C18:1 <i>t</i> 11	1,68	2,66	1,80	2,22	3,55	2,55	2,41	28,2
	C18:1 <i>c</i> 9	17,8	21,5	20,3	21,2	23,3	18,6	20,4	9,79
	C18:3 <i>n</i> -3	0,33	0,42	0,32	0,40	0,56	0,55	0,43	24,1
	CLA <i>c</i> 9, <i>t</i> 11	0,83	1,22	0,93	1,24	1,57	1,21	1,17	22,4

Tabela 2. Teores dos principais AG de interesse para a saúde humana ao longo do período de maturação do queijo artesanal produzido pelo produtor 1, durante as estações seca e chuvosa.

	Ácidos Graxos (g/100g AG totais)	Tempo de Maturação (dias)					Média	CV (%)
		0	7	14	21	28		
Estação Seca	C16:0	28,4	28,3	28,4	28,6	28,6	28,5	0,47
	C18:1 <i>t</i> 11	1,88	1,90	1,95	1,93	1,87	1,91	1,94
	C18:1 <i>c</i> 9	19,6	19,7	19,6	19,9	19,9	19,7	0,80
	C18:3 <i>n</i> -3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,23
	CLA <i>c</i> 9, <i>t</i> 11	0,88	0,88	0,88	0,90	0,90	0,89	0,85
Estação Chuvosa	C16:0	29,5	29,6	29,3	29,2	29,3	29,4	0,56
	C18:1 <i>t</i> 11	1,70	1,70	1,71	1,69	1,75	1,71	1,44
	C18:1 <i>c</i> 9	18,1	18,2	18,4	18,1	18,5	18,3	0,98
	C18:3 <i>n</i> -3	0,33	0,33	0,33	0,32	0,33	0,33	0,77
	CLA <i>c</i> 9, <i>t</i> 11	0,83	0,84	0,85	0,83	0,86	0,84	1,58

Conclusões

Os resultados deste estudo indicam que: 1) O processo utilizado na fabricação dos queijos artesanais de Alagoa não altera o perfil de AG do leite utilizado na sua produção; e 2) Não há influência do período de maturação avaliado sobre o perfil de AG dos queijos.

Agradecimentos

Aos funcionários Hernani Filho e Ernando Motta pelo suporte nas análises laboratoriais.

Referências

AOAC Official Method 989.05. Fat in milk. JAOAC 71, 898 (1988).

CHRISTIE WW. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**. 1982;23:1072-1075.

CRUZ-HERNANDEZ C, KRAMER JKG, KENNELLY JJ, GLIMM DR, SORENSEN BM, OKINE EK et al. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. **Journal of Dairy Science**. 2007; 90:3786-3801.

DEWHURST RJ, SHINGFIELD KJ, LEE MRF, SCOLLAN ND. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science and Technology**. 2006;131:168-206.

ELGERSMA A. Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. **European Journal of Lipid Science and Technology**. 2015;117:1345-1369.

HARA A, RADIN NS. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**. 1978;90(1):420-426.

SHINGFIELD KJ, CHILLIARD Y, TOIVONEN V, KAIRENIUS P, GIVENS DI. 2008. Trans Fatty Acids and Bioactive Lipids. **Adv. Exp. Med. Biol.** 606:3-65.

SIQUEIRA, RL. **Queijo parmesão de Alagoa**: tradição e associativismo como alicerces da economia. In: PARTICIPAÇÃO social, associativismo e desenvolvimento local. Aiuruoca: Fundação Matutu, 2011. p.38-39. (Cadernos da Serra do Papagaio, 3).

Perfil de secreção de hormônio luteinizante em novilhas pré-púberes da raça Gir, submetidas a protocolo de indução de ovulação¹

Paola Maria da Silva Rosa², Agostinho Jorge dos Reis Camargo³, Raquel Varella Serapião³, Bruna Rios Coelho Alves⁴, Guilherme de Paula Nogueira⁵, Clara Slade Oliveira^{6,7}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

²Graduanda em Medicina Veterinária – USS/Vassouras. E-mail: paolarosa.vet@gmail.com

³Pesquisador, Pesagro-Rio, Niterói/RJ. E-mail: agostinhocamargo@yahoo.com.br, rserapis@gmail.com

⁴Analista, Embrapa Gado de Leite - Juiz Fora/MG. E-mail: brunariosalves@gmail.com

⁵Pesquisador, Laboratório de Endocrinologia, Unesp/Araçatuba. E-mail: guilhenogueira@gmail.com

⁶Analista, LRA-CESM/Embrapa Gado de Leite, Valença/RJ. E-mail: clara.oliveira@embrapa.br

⁷Orientador

Resumo: O objetivo do estudo foi identificar o padrão de liberação pré-pico de LH, associá-lo ao crescimento folicular e à resposta ovulatória em novilhas pré-púberes da raça Gir, após protocolo hormonal de indução de ovulação. Doze novilhas Gir pré-púberes criadas em mesmas condições de criação receberam dispositivo intravaginal (dia zero = d0) contendo 1,0 g de P4 durante 12 dias. No d12, o dispositivo foi removido e foram injetados (via I.M.) 0,5 mg ECP e 200 IU de eCG. No d13, amostras de sangue foram coletadas a cada 15min durante 6h para se identificar o padrão pré-pico de secreção de LH. Concentrações plasmáticas de LH foram avaliadas por RIA. O protocolo hormonal induziu ovulação em 41,6% das novilhas (5/12). Após a resposta ovulatória, as fêmeas foram agrupadas: "Ovulou" (G1, n=5) e "Não ovulou" (G2, n=7). As concentrações de LH foram analisadas por deconvolução usando o algoritmo Pulse. Os dados obtidos a partir das análises de LH foram comparadas pelo teste T. A concentração média (ng/mL) de LH (G1: $0,80 \pm 0,08$; G2: $0,96 \pm 0,09$; $p = 0,22$), a secreção basal (pg/mL) estimada (G1: $21,6 \pm 2,3$; G2: $25,4 \pm 2,3$; $p = 0,16$) e a amplitude média (pg/mL) dos pulsos de secreção (G1: $16,9 \pm 1,9$; G2: $19,4 \pm 2,3$; $p = 0,26$) não diferiram entre os grupos. No entanto, a frequência (pulsos/h) de pulsos de secreção (G1: $0,30 \pm 0,06$; G2: $0,48 \pm 0,06$, $p = 0,07$) e a massa total (ng) secretada em pulsos (G1: $0,57 \pm 0,14$; G2: $1,07 \pm 0,19$; $p = 0,08$) foi maior no G2. Os resultados sugerem que a resposta ovulatória ao protocolo hormonal utilizado nas novilhas Gir pré púberes está relacionada com uma menor frequência de secreção pulsátil de LH no momento próximo a indução da ovulação. No entanto, mais estudos devem ser conduzidos para melhor entendimento da dinâmica de secreção pré pico de LH.

Bos Indicus, Maturação sexual, Puberdade

Profile of luteinizing hormone secretion in prepubert Gyr heifers, submitted to ovulation induction protocol

Abstract: The aim of the present study was to identify the pre-peak release pattern of LH, to associate with ovulatory response in Gyr prepubertal heifers after hormonal protocol for ovulation induction. Twelve prepubertal Gyr heifers (18 ± 1.4 months of age) created in the same conditions received an intravaginal device (d0) containing 1.0 g of P4 for 12 days. In d12, the device was removed and 0.5 mg of ECP and 200 IU of eCG were injected (I.M). In d13, blood samples were collected every 15min for 6h to identify the pre-peak pattern of LH secretion. Plasma LH concentrations were assessed by double antibody radioimmunoassay using purified bovine LH. The hormonal protocol induced ovulation in 41.6% of the heifers (5/12), which occurred between d15 and d16. After the ovulatory response, the females were grouped: "Ovulated" (G1, n= 5) and "Non-ovulated" (G2, n= 7). The LH concentrations were analyzed by deconvolution using the Pulse algorithm and the data obtained from the LH analyzes were

compared by the t-test. The mean concentration (ng/mL) of LH (G1: 0.80 ± 0.08 , G2: 0.96 ± 0.09 , $p = 0.22$), estimated basal secretion (pg/mL) (G1: 16.9 ± 1.9 , G2: 21.6 ± 2.3 , G2: 25.4 ± 2.3 , $p = 0.16$) and the mean amplitude (pg/mL) of the secretory pulses (G1: 16.9 ± 1.9 ; G2: 19.4 ± 2.3 , $p = 0.26$) did not differ between groups. However, the frequency (pulses/h) of secretion pulses (G1: 0.30 ± 0.06 , G2: 0.48 ± 0.06 , $p = 0.07$) and the total mass (ng) secreted in pulses (G1: 0.57 ± 0.14 ; G2: 1.07 ± 0.19 ; $p = 0.08$) was higher in G2. The results suggest that the ovulatory response to the hormone protocol used in prepubertal Gyr heifers is related to a lower frequency of pulsatile secretion of LH at the time of ovulation induction. However, further studies should be conducted to better understanding the dynamics of LH pre-peak secretion

Bos Indicus, Puberty, Sexual maturation

Introdução

A puberdade é descrita como a transição do estado anovulatório para a ovulação regular. Sabe-se que próximo a primeira ovulação as fêmeas passam por eventos endócrinos nos quais a liberação e a sensibilidade hormonal é alterada. Nesse processo, o LH responde à perda da sensibilidade hipotalâmica exercida pelo E2, e ocorre o aumento da frequência de pulsos de LH até o pico pré-ovulatório, que acarreta subsequente ovulação (DAY et al., 1984). Acelerar o início da puberdade pode influenciar no aumento da produtividade de animais jovens, através da diminuição do período ocioso que permaneceriam até alcançar a maturidade sexual. O início da puberdade é definido pelas mudanças na fisiologia endócrina que fêmeas pré-púberes passam até a primeira ovulação (CARDOSO E DE PAULA NOGUEIRA, 2007; DAY et al., 1984). Dentre os hormônios mobilizados e que alteram seu perfil de secreção e acarretam a ovulação, o hormônio gonadotrófico LH é um dos principais agentes desse evento. Diversos são os fatores que influenciam os indicadores produtivos de um rebanho, entre eles a puberdade e idade ao primeiro parto. Estas características são moduladas tanto pela raça e composição genética do animal quanto pela nutrição, ganho de peso e adaptação do animal ao ambiente no qual está inserido (ESTILL, 2014). Nesse contexto, a raça Gir é uma das principais raças da subespécie *Bos indicus* utilizada nos sistemas de criação extensiva no Brasil, por possuir rusticidade e suportar as condições tropicais do país. No entanto, estudos que cercam a fisiologia específica da raça ainda são escassos, pois a grande maioria relata a realidade de genótipos *Bos tauros* em sistemas de criação em climas temperados e frios, o que não reflete a fisiologia nem os obstáculos de espécies zebuínas puras ou cruzadas no Brasil. Sendo assim, estudos capazes de identificar particularidades da raça Gir apresentam-se com grande potencial de esclarecer eventos diferenciais dos normalmente descritos na literatura, criando subsídios para melhorar a criação e manejo reprodutivo desses animais, permitindo a diminuição dos custos de produção.

Material e Métodos

O presente trabalho foi aceito sob o protocolo 21/2015 na CEUA- EGL e foi realizado no Campo Experimental de Santa Mônica/Barão de Juparãna-Valença da Embrapa Gado de Leite. Doze novilhas pré-púberes foram submetidas a duas avaliações, com intervalos quinzenais antes do início do tratamento, de diâmetro e tônus uterino (via US/DP-2200 Vet®, Mindray, China), que associados a ausência de corpo lúteo (CL), confirmaram a imaturidade sexual. Os animais receberam um dispositivo intravaginal, no dia zero de tratamento (d0) contendo 1,0 g de Progesterona/P4 (Sincrogest®, Ourofino, Cravinhos, Brasil), e permaneceram com ele por durante 12 dias. No d12, o dispositivo foi removido e foram injetados via Intramuscular 0,5mg de cipionato de estradiol/ECP (ECP®, Zoetis, Campinas, Brasil) e 200IU de Gonadotrofina Coriônica Equina/eCG (Folligon®, Intervet Schering-Plough, Cotia, Brasil). Após a resposta ovulatória, dessa forma a partir desse resultado as fêmeas foram agrupadas em 2 grupos distintos: "Ovulou" (G1, n=5) e "Não ovulou" (G2, n=7), Após 24h do início do tratamento (d13), amostras de sangue foram coletadas, através da punção da veia jugular e o sangue foi depositado em tubo contendo EDTA (Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, USA), imediatamente após as coletas o sangue foi centrifugado a $1.500 \times g$ por 10 minutos à temperatura ambiente e o plasma coletado, armazenado a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. As coletas foram feitas a cada 15 minutos durante 6 horas (totalizando 25 exemplares) para se identificar o padrão pré-pico de secreção de LH. Os ensaios do hormônio

Luteinizante foram feitas através da técnica de radioimunoensaio RIA descrita por Bolt e Rollins, 1983 e Bolt et al., 1990, com algumas adaptações. Como este foi um estudo preliminar, no qual se obtiveram resultados iniciais, com pequeno número de animais considerou-se o nível de significância de 10%. As concentrações de LH foram analisadas por deconvolução usando o algoritmo Pulse (Software Pulse_XP, versão 20090124, Universidade da Virginia, VA, USA). Os dados obtidos a partir das análises de LH foram comparadas pelo teste t (SAS, Institute Inc., Cary, USA).

Resultados e Discussão

O presente estudo foi conduzido com novilhas Gir, com maior aptidão para leite, e com genótipo zebuino. Refletindo a realidade encontrada em grande parcela dos sistemas leiteiros do Brasil. O protocolo hormonal induziu ovulação em 41,6% das novilhas (5/12), que ocorreram entre d15 e d16. As análises do hormônio luteinizante tiveram como função identificar diferenças no seu perfil de secreção no momento de “pré-pico” do hormônio, entre as fêmeas que alcançaram a maturidade sexual (confirmada pelas ovulações e presença de CL) e as fêmeas que não ovularam (ausência de CL). A concentração média (ng/mL) de LH bem como a (G1: $0,80 \pm 0,08$; G2: $0,96 \pm 0,09$; $p = 0,22$), a secreção basal (pg/mL) estimada (G1: $21,6 \pm 2,3$; G2: $25,4 \pm 2,3$; $p = 0,16$) e a amplitude média (pg/mL) dos pulsos de secreção (G1: $16,9 \pm 1,9$; G2: $19,4 \pm 2,3$; $p = 0,26$), não demonstrou diferença entre os grupos, no entanto, a frequência (pulsos/h) de pulsos de secreção (G1: $0,30 \pm 0,06$; G2: $0,48 \pm 0,06$, $p = 0,07$) e a massa total (ng) secretada em pulsos (G1: $0,57 \pm 0,14$; G2: $1,07 \pm 0,19$; $p = 0,08$) foi maior para o grupo de animais que não responderam (“ovulou”) ao tratamento hormonal. O presente estudo não corrobora com análises encontradas por Day et al., 1984, no qual os resultados indicaram que com a aproximação da ovulação ocorre um aumento gradual e linear tanto da frequência dos pulsos de secreção quanto a média de concentração de LH. Rodrigues et al., 2002, quando analisou a amplitude dos picos não observou diferença em animais pré-púberes e púberes, conforme o resultado encontrado no presente trabalho. O aumento na amplitude de secreção de LH normalmente é esperado por ocorrer quando há um aumento paralelo com a concentração estimada do hormônio, no estudo não houve nenhuma diferença entre os dois parâmetros nos grupos de animais que “ovulou” e “não ovulou”. Uma das teorias que podem explicar de os parâmetros de frequência de pulsos/h e massa total secretada nos pulsos variarem juntos, seria que a massa total secretada no pulsos altera sempre proporcionalmente a frequência dos pulsos/h. No entanto, esses parâmetros são em geral analisados em designs de análises que retratam a progressão dos animais em meses (Rodrigues et al., 2002), ou então são feitas em intervalos curtos (a cada 15min por 10h), porém não captam o momento pré-pico de secreção de LH antes da ovulação (Cardoso et al., 2009).

Conclusões

Os resultados sugerem que protocolos hormonais a base de P4 podem ser utilizados com resultados satisfatórios em novilhas pré-púberes da raça Gir e que a resposta ovulatória ao protocolo hormonal utilizado nesses animais não está relacionada com os níveis de LH secretados ao longo dos momentos analisados, mas está correlacionado com uma menor frequência de secreção pulsátil de LH e o potencial de secreção no momento dos pulsos. No entanto, maiores estudos devem ser conduzidos para melhor entendimento da dinâmica de secreção pré pico de LH, aumentando-se o número de animais para confirmar o perfil de secreção diferencial da raça.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio e auxílio financeiro concedido pela Embrapa e CNPq para realização desse trabalho.

Referências

BOLT, D. J.; ROLLINS, R. Development and application of a radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone. *J Anim Sci*, v. 56, n. 1, p. 146-54, Jan 1983. ISSN 0021-8812.

BOLT, D. J.; SCOTT, V.; KIRACOFÉ, G. H. Plasma LH and FSH after estradiol, norgestomet and Gn-RH treatment in ovariectomized beef heifers. *Animal Reproduction Science*, v. 23, n. 4, p.

263-271, 1990/12/01/ 1990. ISSN 0378-4320. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037843209090040M> > .

CARDOSO, D.; DE PAULA NOGUEIRA, G. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v. 10, n. 1, p. 59-68. 1982-1131, 2007.

CARDOSO, D.; FERREIRA, G. F.; NOGUEIRA, G. P. Concentração de LH em novilhas da raça Nelore da desmama à primeira ovulação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1277-1284, 2009. ISSN 1809-6891.

CLARO, I. et al. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v. 74, n. 6, p. 903-11, Oct 2010. ISSN 1879-3231. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494432> > .

DAY, M. L. et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers: estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. **Biol Reprod**, v. 31, n. 2, p. 332-41, Sep 1984. ISSN 0006-3363. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6478017> > .

JOHNSON, S. K.; SMITH, M. F.; ELMORE, R. G. Effect of unilateral ovariectomy and injection of bovine follicular fluid on gonadotropin secretion and compensatory ovarian hypertrophy in prepuberal heifers. **J Anim Sci**, v. 60, n. 4, p. 1055-60, Apr 1985. ISSN 0021-8812. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3921512> > .

ROBERSON, M. S. et al. Steady-state amounts of alpha- and luteinizing hormone (LH) beta-subunit messenger ribonucleic acids are uncoupled from pulsatility of LH secretion during sexual maturation of the heifer. **Biol Reprod**, v. 46, n. 3, p. 435-41, Mar 1992. ISSN 0006-3363.

RODRIGUES, H. D.; KINDER, J. E.; FITZPATRICK, L. A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. **Biol Reprod**, v. 66, n. 3, p. 603-9, Mar 2002. ISSN 0006-3363

Precificação dos atributos do leite fluido no município de Juiz de Fora - MG: uma análise de preços hedônicos¹

Juliana Mota Monteiro da Silva², Glauco Rodrigues Carvalho^{3,5}, Weslem Rodrigues Faria⁴

¹O presente trabalho foi apresentado com o apoio do CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil

²Graduanda em Economia - UFJF. Estagiária na Embrapa. E-mail: juliana.mota@colaborador.embrapa.br

³Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: glauco.carvalho@embrapa.br

⁴Professor, Faculdade de Economia - UFJF. E-mail: weslem.faria@ufjf.edu.br

⁵Orientador

Resumo: A indústria brasileira de laticínios é uma das principais no setor de alimentação e o leite UHT tem ganhado importância nas vendas de leite fluido. O objetivo deste estudo é entender a precificação de atributos do leite fluido no mercado de Juiz de Fora – MG, observando os prêmios para as características de embalagem e teor de gordura. O estudo utilizou um modelo de preços hedônicos e verificou-se um prêmio de 7,56% para o leite semidesnatado, 40,64% para o leite sem lactose e de 13,45% para leite em embalagem de tampa rosqueável. Tais resultados devem ser considerados pela indústria de laticínios nas estratégias de portfólio de produtos.

Palavras-chave: UHT, pasteurizado, hedônico, embalagens, gordura do leite

Pricing Attributes of Fluid Milk in Juiz de Fora City - MG: Hedonic Prices Analysis

Abstract: The Brazilian dairy industry is one of the most important in the Brazilian Food Industry. The UHT milk has increased market share in terms of fluid milk sales. This study aims to understand pricing attributes of fluid milk in Juiz de Fora City located in Minas Gerais States. The analysis was performed using the hedonic price model. A premium price was observed for low fat milk (7,56%), lactose free milk (40,64%) and screw cap package (13,45%). The results should be considered by the dairy industry in terms of portfolio strategy.

Key words: UHT, pasteurized, hedonic price model, packages, milk fat.

Introdução

O faturamento da indústria de laticínios representou cerca de 15% do total da indústria brasileira de alimentos em 2016, ocupando assim a 3^o posição entre os principais setores dessa indústria (ABIA, 2016). O leite UHT (*Ultra High Temperature*) representa cerca de 85% do consumo brasileiro de leite fluido (ABLV, 2016). Parte da expansão do UHT se deve à praticidade de armazenagem, pois essa tecnologia proporcionou aumento no tempo de prateleira do produto (CARVALHO, 2010).

No Brasil o mercado de UHT é extremamente competitivo, as margens são geralmente baixas e as alterações no consumo de alimentos são dadas devido às modificações na renda e nas preferências dos indivíduos - afetadas pela disponibilidade de novos produtos. De acordo com Bimbo et al. (2016), estimar valores para as características do leite UHT pode aumentar a rentabilidade das empresas que operam nesse mercado. Segundo Lancaster (1966), a utilidade do consumo de um bem heterogêneo pode ser descrita por um vetor de características mensuráveis que estão associadas ao produto. Rosen (1974) alude que, consideradas as suposições de competição perfeita e equilíbrio, o modelo de preços hedônicos é capaz de explicar a magnitude dos atributos aditados ao bem. Isso permite conhecer o mercado e as relações entre o preço e as características do produto (BROWN & ETHRIDGE, 1995).

Este estudo é pioneiro no Brasil e tem por objetivo entender, por meio do modelo de preços hedônicos, a precificação dos atributos do leite fluido no mercado de Juiz de Fora – MG.

Material e Métodos

Os dados utilizados neste trabalho são oriundos de um levantamento de campo referente aos preços do leite fluido no município de Juiz de Fora. A coleta dos dados ocorreu no mês de dezembro de 2016 em 37 supermercados da cidade. A análise dos resultados seguiu a metodologia de preços hedônicos, com as devidas correções. As regiões foram definidas de acordo com os dados disponibilizados no site da prefeitura da cidade e as variáveis consideradas encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição das variáveis

Variável	Observações	Preço Mínimo	Preço Máximo	Descrição da Variável
Preço	906	1,90	7,49	1L de leite UHT
Tipo de Embalagem				
rosqueavel	672	1,99	7,49	Tampa Rosqueável = 1; outras = 0
comum	121	1,90	3,99	Comum = 1; outras = 0
abrefacil	22	1,99	2,99	Abre Fácil = 1; outras = 0
gplastica	19	3,79	4,99	Garrafa Plástica = 1; outras = 0
splastico	72	2,19	4,89	Saco Plástico = 1; outros = 0
Redes de Supermercado				
supermais	92	1,99	6,99	Super Mais = 1; outros = 0
sales	22	1,99	7,49	Sales = 1; outros = 0
villefort	15	2,06	3,39	Villefort = 1; outros = 0
martminas	12	1,98	3,98	Mart Minas = 1; outros = 0
makro	6	2,15	2,55	Makro = 1; outros = 0
atacadoo	10	1,99	3,19	Atacadão = 1; outros = 0
carrefoursup	50	1,99	6,19	Carrefour = 1; outros = 0
bretas	151	1,99	6,59	Bretas = 1; outros = 0
bahamas	426	1,90	4,99	Bahamas = 1; outros = 0
emporioba	122	2,19	4,99	Empório Bahamas = 1; outros = 0
Região da Cidade				
central	353	1,90	6,59	Central = 1; outras = 0
norte	172	1,90	6,99	Norte = 1; outras = 0
sul	179	1,99	6,59	Sul = 1; outras = 0
leste	66	1,90	6,99	Leste = 1; outras = 0
oeste	71	1,99	6,99	Oeste = 1; outras = 0
nordeste	65	1,99	7,49	Nordeste = 1; outras = 0
Nutrientes Adicionados				
acidofolico	27	3,49	4,99	Ácido Fólico = 1; outros = 0
vitk	28	3,49	6,99	Vitamina K = 1; outras = 0
vita	180	2,06	6,99	Vitamina A = 1; outras = 0
vitb1	27	3,49	4,99	Vitamina B1 = 1; outras = 0
vitb2	16	3,49	4,99	Vitamina B2 = 1; outras = 0
vitb6	16	3,49	4,99	Vitamina B6 = 1; outras = 0
vitb12	16	3,49	4,99	Vitamina B12 = 1; outras = 0
vitc	180	2,06	6,99	Vitamina C = 1; outras = 0
vite	30	3,49	4,99	Vitamina E = 1; outras = 0
vitd	228	2,06	6,99	Vitamina D = 1; outras = 0
ferro	102	2,89	6,99	Ferro = 1; outros = 0
zinco	68	2,89	6,99	Zinco = 1; outros = 0
calcio	107	2,15	7,49	Cálcio = 1; outros = 0
Teor de Gordura e Lactose				
sem lactose	158	2,29	7,49	Sem Lactose = 1; outros = 0
integral	428	1,90	6,99	Integral = 1; outros = 0
desnatado	289	1,90	7,49	Desnatado = 1; outros = 0
semidesnatado	189	1,90	6,99	Semidesnatado = 1; outros = 0
Leite Pasteurizado				
a	34	2,49	4,89	Tipo A = 1; outros = 0
c	47	2,19	3,49	Tipo C = 1; outros = 0

As rotinas e testes foram realizados por meio do software estatístico Stata e o processo de estimação e especificação das equações seguiu o método MQO, utilizando-se do critério de informação bayesiano (BIC) para a definição do melhor ajustamento. A presença de multicolinearidade foi verificada através do teste VIF (*Variance Inflation Factor*).

O preço do produto foi descrito conforme a equação (1):

$$P_j = f(Z_j), \quad (1)$$

Em que Z é o vetor de atributos dos j produtos e $f(.)$ é a especificação da forma funcional, implicando que o preço dos P produtos seja uma função marginal dos Z atributos. Seguindo a mesma modelagem adotada por Bimbo et al. (2016), a estimação foi feita por meio de um modelo semilogarítmico, que resultou na equação (2):

$$\ln \text{preço} = \alpha + \beta_1 \text{integral} + \beta_2 \text{semidesnatado} + \beta_3 \text{sem lactose} + \beta_4 \text{vitk} + \beta_5 \text{ferro} + \beta_6 \text{zinco} + \beta_7 \text{cálcio} + \beta_8 \text{A} + \beta_9 \text{rosqueavel} + \beta_{10} \text{comum} + \beta_{11} \text{gplastica} + \beta_{12} \text{splastico} + \beta_{13} \text{oeste} + \beta_{14} \text{leste} + \beta_{15} \text{norte} + \beta_{16} \text{supermais} + \beta_{17} \text{atacado} + \beta_{18} \text{bretas} + \beta_{19} \text{bahamas} + \beta_{20} \text{emporioba} + \epsilon_j \quad (2)$$

Para essa equação, o “produto característico” foi definido pelo conjunto: leite desnatado, embalagem comum, vitamina B2, região nordeste e rede de supermercados Makro. Na equação acima o preço do leite adota a forma logarítmica ($\ln \text{preço}$) e apresenta-se como função das características adicionadas ao produto e da influência da rede de supermercados. A variável “tipo A”, referente ao leite pasteurizado tipo A, foi incluída ao modelo por ser um produto de qualidade superior encontrado em vários pontos de venda. Além disso, acrescer essa variável e a variável “sem lactose” melhorou a especificação do modelo, por meio do teste BIC.

Modelos que visam explicar o impacto percentual na variável dependente por meio de variáveis dummies necessitam de correção, pois a variável não está diretamente relacionada a um percentual. Desse modo, foram adotadas as correções propostas por Kennedy (1981) e Giles (1982). Dessa forma, foi calculado o efeito marginal dos atributos no preço. A correção consiste na equação (4):

$$\hat{p} = 100 * [\exp * (\hat{c} - 1/2 V(\hat{c})) - 1]. \quad (4)$$

Em que \hat{c} é o coeficiente estimado por mínimos quadrados ordinários (MQO) e $V(\hat{c})$ corresponde à variância de \hat{c} .

Resultados e Discussão

Dentre os atributos adicionados, o que conferiu maior ágio aos preços foi o ferro, apresentando um prêmio de 40,38%, sobre o leite sem adição de vitaminas (Tabela 2).

Tabela 2. Estimação dos resultados

Variável	β	SE	Efeito Relativo (%)
integral	0,010	0,012	1,01
semidesnatado	0.0730***	0,014	7,56
sem lactose	0.341***	0,014	40,64
vitk	0.287***	0,033	33,15
ferro	0.339***	0,016	40,38
calcio	0.137***	0,018	14,61
a	0.410***	0,032	50,61
rosqueavel	0.126***	0,015	13,45
gplastica	0.612***	0,039	84,22
splastico	0.071***	0,025	7,37
abrefacil	-0,026	0,034	-2,60
oeste	0.033*	0,019	3,35
leste	0.080***	0,021	8,32
norte	-0.070***	0,015	-6,79
supermais	0.050**	0,023	5,14
atacado	-0.090*	0,049	-8,67
bretas	-0.051***	0,019	-5,03
bahamas	-0.109***	0,016	-10,38
emporioba	-0.099***	0,020	-9,42
constante	0.874***	0,020	
R2 ajustado	0,736		

*** 1%

**5

*10

O leite integral apresentou-se significativo apenas a 60% com um prêmio de 1% sobre o desnatado, enquanto o leite semidesnatado apresentou prêmio de 7,56% sobre o desnatado, denotando a ainda pouco expressiva modificação na atribuição de valor do consumidor juiz-forano no que se refere ao teor de gordura presente nos alimentos.

No que tange às embalagens, a análise conferiu maior prêmio à garrafa plástica, 84,22%. O segundo melhor prêmio foi referente à caixa rosqueável, que dentre as observadas foi a mais frequente, presente em 74,2% do total.

Outro aspecto que merece ser comentado refere-se à segmentação de mercado. A região da cidade que apresentou maior ágio de preços foi a região leste, que compreende apenas supermercados da rede Bahamas e Super Mais. Por outro lado, o menor ágio foi encontrado na região norte, onde se encontram seis das nove redes avaliadas, sendo que quatro realizam vendas tanto em forma de atacado quanto varejo. Ademais, a rede de supermercados Bahamas compreende 47% das 906 observações, estando presente em todas as regiões da cidade.

Conclusões

No mercado de Juiz de Fora, o Leite sem lactose apresenta um maior ágio que aqueles em que tal açúcar está presente, sendo este um mercado a ser explorado nas estratégias de portfólio das empresas. Por meio do estudo observa-se que maiores prêmios são atribuídos ao leite com embalagem de tampa rosqueável e à garrafa plástica. Denotando que a praticidade influi na aquisição do produto. Outro fato relevante é que alguns autores colocam a gordura do leite como benéfica para a saúde, podendo essa ser uma das explicações para o leite desnatado apresentar deságio quando comparado aos demais.

Referências

ABIA. **Números do setor - faturamento. São Paulo. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA)**. Disponível em: < <http://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2015.pdf> >. Acesso em: 20 nov. 2016.

ABLV. **Relatório anual, 2016. São Paulo. Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida (ABLV)**. Disponível em: < <http://www.ablv.org.br> >. Acesso em: 20 nov. 2016. BIMBO, F.; BONANNO, A.; LIU, X.; VISCECCHIA, R. Hedonic analysis of the price of UHT-treated milk in Italy. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.2, p. 1095–1102, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10018>> Acesso em: 18 jan. 2017.

BROWN, J. E.; ETHRIDGE, D. E. Functional form model specification: an application to hedonic pricing. **Agricultural and Resource Economics Review**, v.24, n.2, p. 166–173, 1995. Disponível em: < <https://ttu-ir.tdl.org/ttu-ir/handle/2346/1558> > Acesso em: 19 jan. 2017.

CARVALHO, G. R. **A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro**. Circular Técnica n.102, Embrapa Gado de Leite, p. 1–12, 2010.

KENNEDY, B. P. E. Estimation with Correctly Interpreted Dummy Variables in Semilogarithmic Equations. **American Economic Association**. v. 71, n.4, p. 801, 1981. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/1806207?seq=1#page_scan_tab_contents> Acesso em: 15 mar. 2017.

LANCASTER, K. J. A New Approach to Consumer Theory, **Journal of Political Economy**. v.74, n. 2, p.132-157,1966. Disponível em:<https://www.jstor.org/stable/1828835?seq=1#page_scan_tab_contents> Acesso em: 20 mar. 2017.

ROSEN, S. Hedonic Prices and Implicit Markets: Product Differentiation in Pure Competition. **Journal of Political Economy**, v.82, n.1, p. 34-55, 1974. Disponível em: <<http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdfplus/10.1086/260169>> Acesso em: 10 fev. 2017.

Resistência para a *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) em clones advindos de populações melhoradas de *Brachiaria ruziziensis*¹

Giani Batista da Silva², Alexander Machado Auad³, Tiago Teixeira Rezende⁴, Fausto Souza Sobrinho³, Bruno dos Santos Rodrigues²

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil

²Graduando em Ciências Biológicas – CES/JF. Bolsista CNPq. E-mail: gianibatistaa@outlook.com, Bolsista da Embrapa. E-mail: brunnosrodrigues@hotmail.com

³Pesquisador, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora/MG. E-mail: alexander.auad@embrapa.br, fausto.sousa@embrapa.br

⁴Técnico, Embrapa Gado de Leite

Resumo: As cigarrinhas-das-pastagens (Hemiptera: Cercopidae) causam prejuízos a produção de leite e carne, uma vez que estas comprometem a produção de forrageiras. O uso de plantas resistentes tem sido uma das alternativas promissoras no controle das cigarrinhas-das-pastagens. Dessa forma, o objetivo desse estudo, foi avaliar clones melhorados de *B. ruziziensis* quanto a resistência à *Mahanarva spectabilis*. Adotou-se o delineamento de blocos casualizados com 66 clones de *B. ruziziensis* com 5 repetições, além dos grupos controle. Cada vaso de 300 mL infestado com 6 ovos, próximos à eclosão, de *M. spectabilis* foi vedado e, após 40 dias realizou-se a contagem de ninfas do inseto-praga sobreviventes. Os dados foram submetidos a análise de variância e comparada pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$). Houve diferenças significativas na média de sobrevivência ninfal de *M. spectabilis* nos diferentes clones de *B. ruziziensis* ($P = 0,0001$ e $F = 1,93$), variando de 0% a 63,3%. As testemunhas *B. brizantha* e *B. decumbens* confirmaram a resistência e suscetibilidade, respectivamente. Os clones que obtiveram valores inferiores a 30%, que representam 51,52% do total de clones testados, confirmam a eficácia da seleção para resistência às cigarrinhas após ciclos sucessivos de intercruzamentos.

Palavras-chave: cigarrinha-das-pastagens, forrageira, resistência de plantas, antibiose.

Resistance to *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) in clones from *Brachiaria ruziziensis* population improved

Abstract: The spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) causes damage to production of milk and meat, since they compromise the production of forage. The use of resistant plants has been one of the promising alternatives in the control of spittlebugs. Thus, the objective of this study was to evaluate improved clones of *B. ruziziensis* for resistance to *Mahanarva spectabilis*. A randomized complete block design was used with 66 clones of *B. ruziziensis* with 5 replicates, in addition to the control groups. Each 300 mL vase infested with 6 eggs, close to hatching, of *M. spectabilis*, was closed and after 40 days the nymphal survival was evaluated. The data were submitted to analysis of variance and compared by the Scott Knott test ($P < 0.05$). There were significant differences in the nymphal survival of *M. spectabilis* in the different *B. ruziziensis* clones ($P = 0.0001$ and $F = 1.93$), from 0% to 63.3%. The clones that obtained values lower than 30%, representing 51.52% of the total clones tested, confirm the efficacy of the selection for resistance to the spittlebugs after successive selection cycles.

Keywords: spittlebugs, forage, pest resistance, antibiosis.

Introdução

O gênero *Brachiaria* se destaca dentre as forrageiras cultivadas pelo país, principalmente pela sua boa adaptação a solos ácidos e com baixa fertilidade. Dentro deste gênero, a *Brachiaria ruziziensis* é a espécie mais utilizada nos sistemas integrados de cultivo. É também, a única espécie de braquiária que possibilita a realização de cruzamentos, e geração de variabilidade para

a seleção de plantas promissoras, por ser uma espécie totalmente sexual e diploide (SOUZA SOBRINHO et al., 2009).

As cigarrinhas das pastagens (Hemiptera: Cercopidae) são insetos que causam prejuízos para a produção de leite e carne, uma vez que estas comprometem a produção de plantas forrageiras, que é uma fonte de alimento bovino (PAULA MORAES, 2006; AUAD et al., 2011). O uso de plantas resistentes tem sido uma das alternativas promissoras no controle das cigarrinhas-das-pastagens, uma vez que o controle químico dessa praga é ecológica e economicamente inviável.

Nesse sentido, a Embrapa Gado de Leite tem um programa de melhoramento de *B. ruzienseis*, baseado na seleção recorrente intraespecífica. Nesse programa são selecionadas as plantas diploides de *B. ruzienseis*, anualmente, com a intenção principal de incrementar a produtividade, a qualidade da forragem e a resistência às cigarrinhas das pastagens. Assim, o objetivou-se avaliar clones melhorados de *Brachiaria ruzienseis* quanto a resistência à *Mahanarva spectabilis*.

Material e Métodos

Adultos de *M. spectabilis* foram coletados no campo experimental da Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, transferidos para o Laboratório de Entomologia, onde foram mantidos em plantas de *B. ruzienseis*, advindas da casa de vegetação da Embrapa Gado de Leite, e alojadas em gaiolas de acrílico para a obtenção de ovos. Esses foram transferidos para uma câmara climatizada (25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de Umidade Relativa e 12h de fotofase) até o estádio S4, próximo a eclosão das ninfas.

Foram avaliados 66 clones de *B. ruzienseis* oriundos do terceiro ciclo de seleção recorrente do programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite. Como controle resistente foi empregada a cultivar Marandu (*B. brizantha*), e como suscetível a cultivar Basilisk (*B. decumbens*).

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados completos, com cinco repetições e parcelas de uma planta. De cada um dos materiais genéticos foram obtidas mudas por meio da clonagem de estacas maduras, as quais foram cultivadas em copos de 300 mL, contendo substrato à base de terra, areia e esterco (1:1:1). Por ocasião da implantação do experimento, as plantas foram lavadas na superfície, com o objetivo de expor as raízes e facilitar a alimentação das ninfas. Os copos foram individualmente infestados com seis ovos do inseto em estágio S4 (próximo a eclosão das ninfas), e em seguida vedados com tampa e gase afim de evitar que as ninfas fugissem após a eclosão.

Após 40 dias da deposição dos ovos foi realizada a contagem de ninfas de terceiro a quinto instares sobreviventes. Os dados das porcentagens de sobrevivência de ninfas foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Socott Knott ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Houve uma variação significativa na média de sobrevivência ninfal de *M. spectabilis* nos diferentes clones de *B. ruzienseis* ($P = 0,0001$ $F = 1,93$), variando de 0% a 63,3%. Os controles utilizados confirmaram os padrões de resistência (*B. brizantha*) e suscetibilidade (*B. decumbens*), com médias de sobrevivência de 36,6% a 63,3%, respectivamente, concordando com relatos de Auad et al. (2010).

Dos 66 clones de *B. ruzienseis* observou-se que 34 clones (51,52%), representados pelo grupo com sobrevivência significativamente inferior (15,96%) pelo teste de Scott Knott, foram desfavoráveis para o desenvolvimento das ninfas das cigarrinhas das pastagens (Figura 1), o que evidencia serem plantas promissoras quanto à resistência por antibiose à espécie praga avaliada. Essas plantas podem ser multiplicadas e intercruzadas para a continuidade do programa de melhoramento. Importante ressaltar que alguns desses clones apresentam potencial produtivo semelhante às melhores cultivares de *Brachiaria* disponíveis no mercado, indicando a possibilidade de associar produtividade de forragem e resistência à *M. spectabilis* em *B. ruzienseis*. Tal resultado é explicado pelo fato das plantas serem oriundas de ciclos anteriores de seleção, evidenciando a atuação da seleção e aumento de alelos favoráveis para resistência a cigarrinhas das pastagens.

Os demais clones avaliados foram agrupados pelo teste de Scott Knott, juntamente com a testemunha suscetível. Constatou-se nesse grupo que 40,91% (27 clones) (Figura 1) proporcionaram sobrevivência ninfal, com valores entre as testemunhas resistentes e susceptíveis, o que sugere não serem favoráveis em regiões em que há prevalência do inseto. Porém, dentro desse grupo encontram-se aqueles com resistência intermediária (30 a 50% de sobrevivência) e suscetível (acima de 50%), pela escala de Cardona (1999). No entanto, caso os clones de resistência intermediária tenham elevado potencial produtivo, os mesmos poderão ser intercruzados com os clones desfavoráveis ao desenvolvimento do inseto praga.

Auad et al. (2010) em trabalho semelhante, selecionaram 5,6% e 19,1% do total das plantas avaliadas, quanto a resistência a *M. spectabilis*, em conjunto de plantas sem seleção prévia para o inseto-praga, e em plantas advindas do 1º ciclo de seleção respectivamente. No presente trabalho 51,52% dos clones foram desfavoráveis ao desenvolvimento do inseto praga, indicando haver ganhos com o passar dos ciclos de seleção do programa de melhoramento. Tais resultados, corroboram os obtidos por Ramalho et al. (2010) que relataram que, por intermédio de ciclos sucessivos de avaliações e seleção, utilizando a seleção recorrente, será possível o incremento da frequência dos alelos favoráveis na população, com aumento da média fenotípica da característica em avaliação.

Conclusões

Os ciclos de seleção visando à obtenção de cultivares de *B. ruziziensis* resistentes a *M. spectabilis* tem promovido o aumento do número de clones selecionados, confirmando a eficácia da seleção para resistência às cigarrinhas.

Agradecimentos

Agradeço a Embrapa Gado de Leite pela oportunidade de estágio e grande aprendizado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro.

Referências

AUAD, A.M.; SILVA, D.M.; RESENDE, T.T.; SOUZA SOBRINHO, F. ; VERISSIMO, B.A. 2009. Resistência para a *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) em populações melhoradas de *Brachiaria ruziziensis*. In: V Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. **Anais...**Guarapari: CBMP, p. 1-4.

AUAD, A. M.; FONSECA, M.G; RESENDE, T.T.; SOUZA SOBRINHO, F.; SILVA, S.E.B.; SILVA, T.A.; MADALENA, I.S.P. 2011. Avaliação de clones de *Brachiaria ruziziensis* quanto à resistência a *Deois schach* (Homoptera: Cercopidae). In: VI Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. **Anais...**Búzios. CBMP, p.1-3.

CARDONA, C.; FORY, P.; SOTELO, G.; PABÓN, A.; DIAZ, G. & MILES. J. W. 2004. Antibiosis and tolerance to five species of *spittlebug* (Homoptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: implications for breeding for resistance. **Journal of Economic Entomology** 97(2): 635-645.

PAULA-MORAES, S.V. 2006. **Cadeia produtiva da carne é ameaçada por praga**. Disponível em: http://www.cpac.embrapa.br/materias_pripag/nucleotematico.html> Acesso em: 5 de março de 2015.

SOUZA SOBRINHO, F.; CARNEIRO, H.; LÉDO, F.J.S.; SOUZA, F.F. **Produtividade e qualidade da forragem de *Brachiaria* na Região Norte Fluminense**, 2009.

VALÉRIO, J. R. Cigarrinhas das pastagens. Circular Técnica, Documento 179. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Embrapa Gado de Corte, 2009.

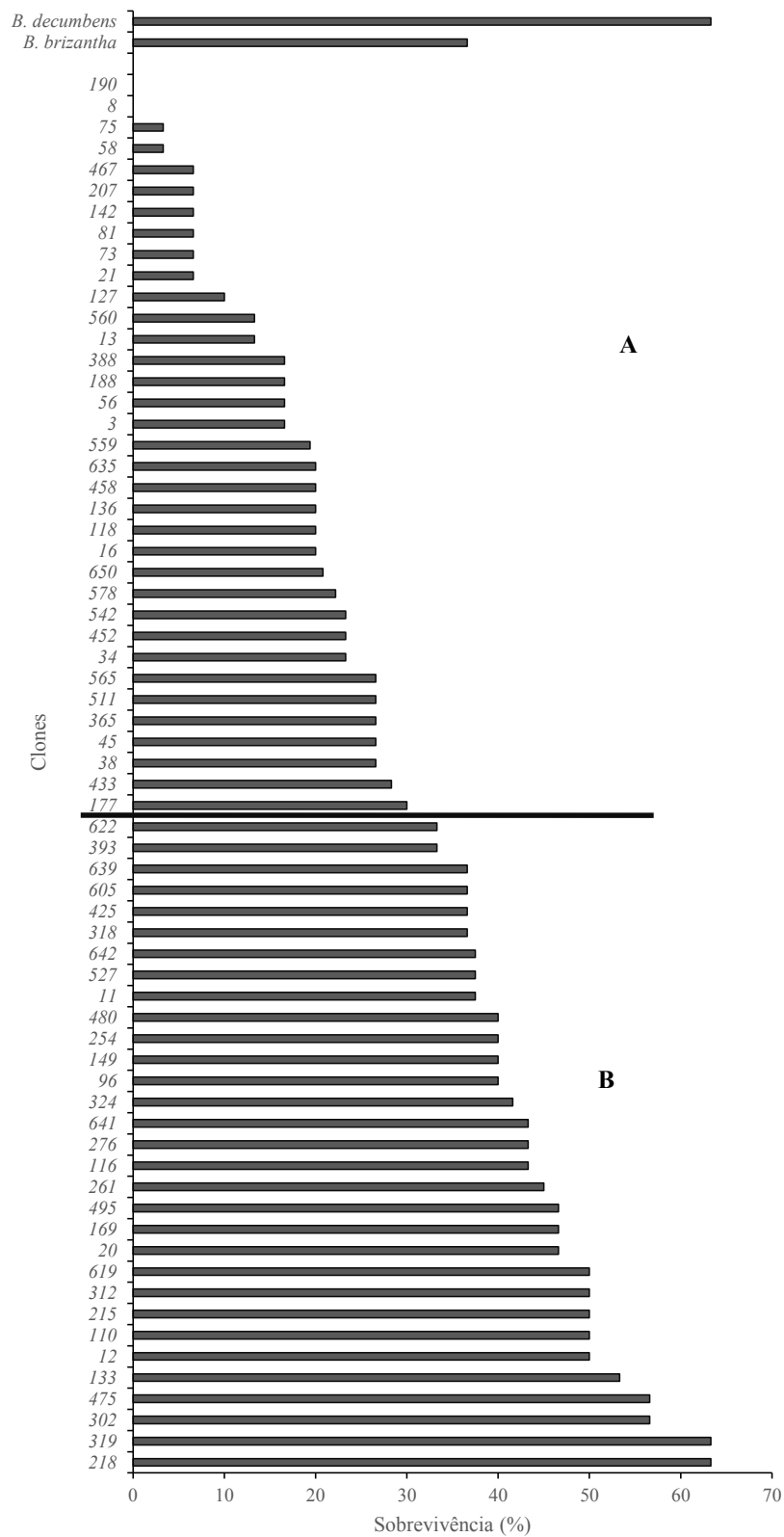


Figura 1. Média da sobrevivência ninfal (%) de *M. spectabilis* em clones do terceiro ciclo de cruzamento do programa de melhoramento de *B. ruzizensis*.

Susceptibilidade a antimicrobianos de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite¹

Thais Cristina de Assis Oliveira², Isabela Fagundes Evangelista³, Ketina Andréa Müller⁴, Renata de Freitas Mendes⁵, Carla Christine Lange⁶, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva Brito^{6,7}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do plano de ação "Coleção de Microrganismos de Interesse para Agroindústria e Pecuária (Embrapa, 01.15.02.001.07.03)", liderado por Maria A. V. P. Brito.

²Graduanda em Ciências Biológicas – CES/Juiz de Fora. Bolsista PIBIC do CNPq. E-mail: thais.cris.ld@gmail.com

³Graduanda em Ciências Biológicas – CES/Juiz de Fora. E-mail: isabela_jfnet@hotmail.com

⁴Graduanda em Medicina Veterinária – Unicruz/Cruz Alta. E-mail: ketina.andrea@hotmail.com

⁵Professor – CES/Juiz de Fora. E-mail: renatamendes@pucminas.cesjf.br

⁶Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: carla.lange@embrapa.br; maria.brito@embrapa.br

⁷Orientador

Resumo: A resistência aos antimicrobianos é um assunto complexo e um sério problema de saúde pública. O uso de antimicrobianos em medicina veterinária e como promotores de crescimento e prevenção de doenças na agricultura e pecuária é muito intenso e estudos recentes confirmaram a transferência de genes de resistência do animal para o homem. *Staphylococcus aureus* é um patógeno responsável por toxi-infecções alimentares, comumente encontrado no leite e seus derivados. O objetivo do presente estudo foi estabelecer o fenótipo de resistência de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica. O fenótipo de resistência aos antimicrobianos foi avaliado pelo teste de difusão em ágar com discos de antibióticos, de acordo com as recomendações do Clinical Laboratory Standards Institute. Quarenta e dois por cento das estirpes foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados; 39% foram resistentes somente à penicilina e 12% foram resistentes à penicilina e tetraciclina, concomitantemente. Quatro estirpes apresentaram multirresistência e nenhuma estirpe analisada apresentou resistência à meticilina. O percentual de resistência à penicilina encontrado neste estudo foi semelhante ao relatado em outros estudos conduzidos com *S. aureus* de mastite bovina no Brasil. Adicionalmente foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das 21 estirpes que apresentaram resistência à tetraciclina pelo teste de difusão, utilizando-se tiras de Etest®. Destas, 15 estirpes foram resistentes, quatro estirpes apresentaram resistência intermediária e duas estirpes foram susceptíveis à tetraciclina pelo Etest®. Os valores da CIM para tetraciclina nas estirpes resistentes variou de 16 a 32 µg/mL. As estirpes intermediárias apresentaram CIM de 8 µg/mL e as estirpes susceptíveis apresentaram CIM de 0,125 µg/mL e 0,250 µg/mL.

Palavras-chave: antibióticos, penicilina, resistência, tetraciclina, concentração inibitória mínima

Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows with mastitis

Abstract: Antimicrobial resistance is a complex issue and a serious public health problem. The use of antimicrobials in veterinary medicine and as growth promoters and disease prevention in agriculture and livestock farming is very intense and recent studies have confirmed the transfer of resistance genes from animal to man. *Staphylococcus aureus* is a pathogen responsible for food-borne infections, commonly found in milk and dairy products. The aim of the present study was to establish the resistance phenotype of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows with subclinical mastitis. The antimicrobial resistance phenotype was evaluated by the disc diffusion susceptibility test, according to the recommendations of the Clinical Laboratory Standards Institute. Forty-two percent of the strains were susceptible to all antimicrobials tested; 39% were resistant only to penicillin and 12% were resistant to penicillin and tetracycline, concomitantly. Four strains showed multiresistance and no strain showed resistance to

methicillin. The percentage of resistance to penicillin found in this study was similar to that reported in other studies conducted with *S. aureus* from bovine mastitis in Brazil. In addition, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the 21 strains that showed resistance to tetracycline were determined by Etest® strips. Of these, 15 strains were resistant, four strains showed intermediate resistance and two strains were susceptible to tetracycline by Etest®. MIC values for tetracycline in resistant strains ranged from 16 to 32 µg/mL. Intermediate strains had MICs of 8 µg/mL and susceptible strains had MICs of 0.125 µg/mL and 0.250 µg/mL.

Keywords: antibiotics, penicillin, resistance, tetracycline, minimum inhibitory concentration

Introdução

O uso de antimicrobianos em animais de produção é um assunto de extrema importância e alvo de grande preocupação para a saúde pública por causa da potencial seleção de resistência aos antimicrobianos e a potencial transmissão de determinantes de resistência para a microbiota humana (WENDLANDT et al., 2013).

Staphylococcus aureus é um agente etiológico de mastite bovina frequentemente isolado dos rebanhos leiteiros brasileiros (RABELLO et al., 2005; SANTIAGO-NETO et al., 2014). É um patógeno responsável por toxi-infecções alimentares e comumente encontrado no leite e seus derivados (SPANU et al., 2014; JAMALI et al., 2015). A origem da contaminação dos produtos lácteos com *S. aureus* pode ser o leite do animal com mastite causada pelo patógeno, o ambiente ou os manipuladores. Além do risco de causarem toxi-infecções alimentares, quando os patógenos apresentam resistência aos antimicrobianos, as infecções podem ter o seu tratamento dificultado (CDC, 2017). O objetivo do presente estudo foi estabelecer o fenótipo de resistência de estirpes de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido com 134 estirpes de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite de rebanhos leiteiros das regiões Sul e Sudeste do Brasil. A resistência aos antimicrobianos foi avaliada pelo teste de difusão em ágar com discos de antibióticos, de acordo com as recomendações do CLSI (2013a). As bactérias foram testadas com os seguintes antimicrobianos (Oxoid, Hampshire, UK): penicilina G (10 UI), ceftiofur (30 µg), cefalotina (30 µg), cefoxitina (30 µg), tetraciclina (30 µg), gentamicina (10 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), sulfonamidas 300 µg e trimetoprim/sulfametoxazol (25 µg). A estirpe *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle de qualidade do teste.

Foi também determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das estirpes resistentes à tetraciclina utilizando tiras de Etest® (Biomérieux, Hazelwood, MO, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. A estirpe *S. aureus* ATCC 29213 foi utilizada como controle do teste. Os resultados dos testes de susceptibilidade foram comparados com os pontos de corte descritos no documento VET01-S2 (CLSI, 2013b).

Resultados e Discussão

Foi pesquisada a susceptibilidade de 134 estirpes de *S. aureus* a dez antimicrobianos. Cinquenta e sete estirpes (42,5%) foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados. Cinquenta e duas estirpes (39%) foram resistentes somente à penicilina. Dezesesseis estirpes (12%) foram resistentes à penicilina e tetraciclina, concomitantemente. Duas estirpes (1,5%) foram resistentes somente à tetraciclina. Foi detectada ainda resistência à eritromicina (6 estirpes), clindamicina (3 estirpes) e sulfonamidas (1 estirpe). Quatro estirpes apresentaram multiresistência, que é a resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Nenhuma estirpe analisada apresentou resistência à metilina, que foi testada com discos de cefoxitina.

Foi determinada a CIM (Etest®) das 21 estirpes que apresentaram resistência à tetraciclina pelo teste de difusão. Destas, 15 estirpes foram resistentes, quatro estirpes apresentaram resistência intermediária e duas estirpes foram susceptíveis à tetraciclina pelo Etest®. Os valores da CIM para tetraciclina nas estirpes resistentes variou de 16 a 32 µg/mL. As estirpes intermediárias apresentaram CIM de 8 µg/mL e as estirpes susceptíveis apresentaram CIM de 0,125 µg/mL e 0,250 µg/mL.

Totalizando, 73 estirpes (54,5%) deste estudo foram resistentes à penicilina, percentagem semelhante à reportada por Rabello et al. (2005) e Santiago-Neto et al. (2014) em *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de rebanhos leiteiros dos estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. Dezesesseis por cento das estirpes desse estudo apresentaram resistência à tetraciclina, percentagem superior à reportada nos estudos citados acima.

Dezesesseis estirpes (12%) foram resistentes à penicilina e tetraciclina, concomitantemente. Martini et al. (2017) também reportaram resistência concomitante à penicilina e tetraciclina em um grande número de estirpes (88%) de *S. aureus* isoladas de leite de vacas na Zona da Mata de Minas Gerais.

Não foi detectada resistência à meticilina nas estirpes de *S. aureus* desse estudo, nem tampouco em um estudo anterior realizado por nosso grupo de pesquisa (SANTOS et al., 2016). Entretanto, resistência à meticilina em *S. aureus* isolados de mastite bovina foi reportada recentemente no Brasil por Guimarães et al. (2017).

Conclusões

O fenótipo de resistência apresentado com maior frequência pelas estirpes de *S. aureus* estudadas foi o de resistência à penicilina, e o percentual de resistência à penicilina foi semelhante aos relatados em outros estudos conduzidos com *S. aureus* de mastite bovina no Brasil. Nenhuma estirpe analisada apresentou resistência à meticilina; quatro estirpes apresentaram multirresistência, manifestada pela resistência concomitante a três ou mais classes de antimicrobianos.

Agradecimentos

À Embrapa e ao CNPq, pelo apoio financeiro (Embrapa 02.13.14.001.00.00 e CNPq 403098/2013-0). Ao CNPq e à Fapemig, pelas bolsas de Iniciação Científica de T.C.A. Oliveira e I.F. Evangelista.

REFERÊNCIAS

CDC - Centers for Diseases Control and Prevention. Atlanta, 2017. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/foodsafety/challenges/antibiotic-resistance.html>>. Acesso em: 17 abril 2017.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals**; Approved Standard, 4th ed. CLSI document VET01–A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013a.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals**; Second Informational Supplement. CLSI document VET01–S2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013b.

GUIMARÃES, F.F.; MANZI, M.P.; JOAQUIM, S.F.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; LANGONI, H. Short communication: Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)-associated mastitis in a closed dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.726–730, 2017.

JAMALI, H.; PAYDAR, M.; RADMEHR, B.; ISMAIL, S.; DADRASNIA, A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, v.54, p.383-388, 2015.

MARTINI, C.L.; LANGE, C.C.; BRITO, M.A.V.P.; RIBEIRO, J.B.; MENDONÇA, L.C.; VAZ, E.K. Characterisation of penicillin and tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk samples in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Dairy Research**, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029917000061>

RABELLO, R.F.; SOUZA, C.R.V.M.; DUARTE, R.S.; LOPES, R.M.M.; TEIXEIRA, L.M.; CASTRO, A.C.D. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bovine mastitis in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3211-3219, 2005.

SANTIAGO-NETO, W.; MACHADO, G.; PAIM, D.S.; CAMPOS, T.; BRITO, M.A.V.P.; CARDOSO, M.R.I.; CORBELLINI, L.G. Relação da idade na presença de bactérias resistentes a antimicrobianos em rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, p.613-620, 2014.

SANTOS, F.F.; MENDONÇA, L.C.; REIS, D.R.L.; GUIMARÃES, A.S.; LANGE, C.C.; RIBEIRO, J.B.; MACHADO, M.A.; BRITO, M.A.V.P. Presence of *mecA*-positive multidrug-resistant *Staphylococcus epidermidis* in bovine milk samples in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1374–1382, 2016.

SPANU, V.; SCARANO, C.; COSSU, F.; PALA, C.; SPANU, C.; DE SANTIS, E.P.L. Antibiotic resistance traits and molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* isolated from raw sheep milk cheese. **Journal of Food Science**, v.79, n.10, p. M2066-M2071, 2014.

WENDLANDT, S.; FESSLER, A.T.; MONECKE, S.; EHRICHT, R.; SCHWARZ, S.; KADLEC, K. The diversity of antimicrobial resistance genes among staphylococci of animal origin. **International Journal of Medical Microbiology**, v.303, p.338–349, 2013.

Tabelas de composição química e bromatológica de alimentos regionais para gado de leite no Estado do Rio Grande do Sul¹

Kívia Real Chemp^{2, 3}, Emiliano Araújo Salgado⁴, Brenna Santos Oliveira⁵, Jorge Schafhäuser Júnior⁶, Fernanda Samarini Machado⁷, Luiz Gustavo Ribeiro Pereira^{3, 7}, André Luis Alves Neves⁸, Mariana Magalhães Campos⁷, Mirton José Frota Morenz^{3,7}, Thierry Ribeiro Tomich^{7, 9}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

²Graduanda em Medicina Veterinária - UNIPAC, Juiz de Fora/MG. E-mail: kiviachemp@yahoo.com.br

³Bolsista do CNPq

⁴Aluno de mestrado do IF Sudeste MG, Rio Pomba/MG. E-mail: emiliano.sal15@yahoo.com.br

⁵Aluna de doutorado da UESC, Ilhéus/BA. E-mail: brenabso@gmail.com,

⁶Pesquisador, Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS. E-mail: jorge.junior@embrapa.br,

⁷Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: fernanda.machado@embrapa.br, luiz.gustavo@embrapa.br, mariana.campos@embrapa.br, mirton.morenz@embrapa.br, thierry.tomich@embrapa.br

⁸Analista, Embrapa Gado de Leite. E-mail: andre.neves@embrapa.br

⁹Orientador

Resumo: O estado do Rio Grande do Sul (RS) apresenta características peculiares de clima, solo, cobertura vegetal e raças bovinas especializadas para produção de leite, assim como a disponibilidade de alimentos diversos para estes animais em relação às demais regiões do País. Neste trabalho foi organizado um banco de dados contendo a designação dos alimentos regionais do RS e as respectivas informações sobre composição química e bromatológica destes. A partir deste banco de dados, foram confeccionadas tabelas de composição química e bromatológica de alimentos regionais utilizados para gado de leite neste estado. Para tal, informações sobre 333 volumosos frescos, 107 de volumosos conservados, 36 coprodutos, 97 alimentos concentrados e 11 minerais foram coletadas em revisão bibliográfica específica do RS. Também foram utilizadas 799 informações sobre análises de alimentos diversos disponíveis no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da Embrapa Clima Temperado. Adicionalmente, para 36 forrageiras com alguma lacuna de informações sobre a bromatologia, foi conduzidas coletas no RS e análises de composição química e digestibilidade no Laboratório de Análise de Alimentos e no Setor de Digestibilidade *In Vitro*. A abrangência deste banco de dados indica que as atuais tabelas de alimentos regionais do Rio Grande do Sul podem compor de forma apropriada uma biblioteca de alimentos para formulação de dietas para gado de leite neste estado.

Palavras-chave: banco de dados, digestibilidade, valor nutritivo

Chemical and bromatological composition tables of regional feed for dairy cattle in the Rio Grande do Sul State

Abstract: The State of Rio Grande do Sul (RS) presents peculiar characteristics of climate, soil, vegetal cover and specialized breeds for milk production, as well as the availability of different feed for these animals in relation to the other regions of the Country. In this work a database was organized with the designation of several regional feed of RS and its respective information of chemical and bromatological compositions. From this database, tables of chemical composition and nutritional value of regional feed were produced to be used for dairy cattle in this State. For this, information of 333 fresh forages, 107 preserved forages, 36 co-products, 97 concentrated feed and 11 minerals were collected in a specific bibliographic review of RS. It was also used 799 information of various feed analyzes available at the Laboratory of Bromatology and Animal Nutrition of Embrapa Temperate Agriculture. In addition, for 36 forages where there was still a lack of information, samples were collected and analyzed for chemical composition and digestibility in the Laboratory of Food Analysis and in the Sector of *In Vitro* Digestibility of Embrapa Dairy Cattle. The large range of this database indicates that the current tables of

regional feed for Rio Grande do Sul State can appropriately compose a feed library for formulation of diets for dairy cattle in this State.

Keywords: database, digestibility, nutritional value

Introdução

A composição química dos alimentos de uma região é influenciada por fatores inerentes ao cultivo, variedades, clima, condições de solo, adubação, processamento e armazenamento. Conforme Valadares Filho et al. (2017), a composição química dos alimentos é um dos fatores determinantes do seu valor nutritivo, sendo de fundamental importância esse conhecimento para o estabelecimento de dietas adequadas aos animais.

O estado do Rio Grande do Sul, RS, encontra-se em região de clima temperado, que apresenta características peculiares de clima, solo, cobertura vegetal, raças bovinas especializadas para produção de leite, assim como a disponibilidade de alimentos diferentes em relação às demais regiões País. Pela inexistência de uma tabela específica, completa e atualizada de composição de alimentos regionais, observa-se, no estado, a adoção de valores existentes em tabelas elaboradas em outros locais para a formulação das dietas. Neste trabalho pretendeu-se organizar um banco de dados abrangente sobre composições de alimentos regionais do RS e confeccionar tabelas de composição química e bromatológica de alimentos regionais utilizados neste estado para embasar formulações de dietas para gado de leite.

Material e Métodos

Foram coletados dados de composição química e bromatológica de alimentos utilizados para bovinos disponíveis em artigos científicos, dissertações e teses de trabalhos executados com coleta de dados no RS (alimentos regionais). Os dados foram organizados em um banco de dados empregando planilha do Microsoft Excel de acordo com tipo de alimento: volumoso natural (fresco), $n = 333$; volumosos conservados (feno ou silagem), $n = 107$; coprodutos, $n = 36$; concentrados (energéticos e proteicos), $n = 97$ e minerais; $n = 11$. Foram ainda organizadas 799 informações de análises de alimentos diversos disponíveis no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da Embrapa Clima Temperado. Por fim, para 36 forrageiras em que ainda havia alguma lacuna de informações, foram conduzidas coletas e processadas análises de composição química e digestibilidade no Laboratório de Análise de Alimentos e no Setor de Digestibilidade *In Vitro* da Embrapa Gado de Leite. Foram efetuadas análises de matéria seca (MS) (AOAC, 1990; método 930.15), proteína bruta (PB) pelo método Kjeldahl (AOAC, 1990; método 991.22), extrato etéreo (EE) pelo processo Soxhlet (AOAC, 1990, método 925.38), cinzas (AOAC, 1990; método 942.05), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) (Van Soest et al., 1991), e digestibilidade *in vitro* de matéria seca e matéria orgânica (TILLEY & TERRY, 1963). Foram calculados conteúdos de nutrientes digestíveis totais (NDT) (NRC, 2001) e carboidratos não fibrosos [CNF = $100 - (PB + EE + Cinzas + FDN)$].

Os dados devidamente organizados contidos neste banco foram utilizados para confecção das tabelas de composição química e bromatológica de alimentos regionais para gado de leite no estado do RS. Alguns alimentos foram agrupados por cultivar, por idade de colheita, dias de rebrota, teores de determinado nutriente, proporção de grãos etc.

Resultados e Discussão

Os dados de composição química e bromatológica foram organizados em um banco conforme exemplo que aparece na Figura 1, onde há a identificação do alimento pelo nome comum em ordem alfabética, pelo nome científico sempre que pertinente, seguidos pelos resultados das análises de composição. Destaca-se que vários dos alimentos contidos neste banco não apresentam estimativas para todos os parâmetros que podem ser requeridos para formulação de dietas. Contudo, avalia-se que o uso parcial de informações mais realísticas sobre o potencial do alimento para atender determinada exigência nutricional pode favorecer a confecção de dietas mais ajustadas e eficientes para suportar certo nível produtivo. Devido ao elevado número de alimentos abordados neste estudo, o total de tabelas não pode ser aqui apresentado. Assim, a Tabela 1 apresenta o exemplo para um alimento volumoso verde.

Figura 1. Exemplo de organização de dados no banco sobre alimentos regionais para gado de leite no Estado do Rio Grande do Sul.

Tabela 1. Composição química e bromatológica média da aveia preta (*Avena strigosa*), cultivar IAPAR-61-IBIPORÃ

MS %	Média	20,5	CZ%	Média	8,1	MO %	Média	91,9
	n	3		n	3		n	3
	s	5,1		s	3,1		s	3,1
PB%	Média	7,8	FDN%	Média	63,1	FDA %	Média	37,6
	n	3		n	3		n	3
	s	1,9		s	6,4		s	4,1
LIG%	Média	4,9	CEL%	Média	32,7	HEM%	Média	25,5
	n	3		n	3		n	3
	s	0,8		s	3,4		s	2,4
FB%	Média	31,2	EE%	Média	1,5	CNF %	Média	19,4
	n	3		n	3		n	3
	s	3,4		s	0,2		s	2,2
Ca%	Média	0,31	P%	Média	0,25	DMS%	Média	59,6
	n	3		n	3		n	3
	s	0,015		s	0,012		s	3,2
NDT%	Média	61,5	ED (MCal/kg/MS)	Média	2,7	EM (MCal/kg/MS)	Média	2,2
	n	3		n	3		n	3
	s	2,9		s	0,1		s	0,1

As diferenças marcantes entre regiões do país, especialmente as climáticas e aquelas associadas aos sistemas de produção típicos de cada local, têm motivado a organização de tabelas regionais. Essas tabelas apresentam a composição de alimentos endêmicos da região e de alimentos encontrados por todo o país, mas cujos processos de produção e armazenagem ou uso e análise ocorreram naquela região focalizada. Como exemplos desta abordagem, podem ser citadas as Tabelas Nordestinas de Composição de Alimentos para Bovinos Leiteiros (NEVES et al., 2014) e a possibilidade de “busca avançada” nas Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos – CQBAL 3.0 (VALADARES FILHO et al., 2017), onde está disponível a composição dos alimentos por região ou estado.

Conclusões

A abrangência do banco de dados coletados em revisão de bibliografia pertinente e daqueles gerados nos laboratórios de bromatologia da Embrapa indica que as atuais tabelas de

alimentos regionais do Rio Grande do Sul apresentam representatividade para compor de forma apropriada uma biblioteca de alimentos para formulação de dietas para gado de leite neste estado, com possibilidade de ganhos em eficiência para os sistemas produtivos.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao apoio conferido pelo SEG/Embrapa e pela Fapemig.

Referências

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15.ed., Arlington: AOAC International, 1990. 1117p.

NEVES, A.L.A.; PEREIRA, L.G.R.; VERNEQUE, R.S.; AZEVEDO, J.A.G.; VIEIRA, P.A.S.; SANTOS, R.D.; ARAUJO, G.G.L.; CHIZZOTTI, M.L.; OLIVEIRA, G.F. de **Tabelas nordestinas de composição de alimentos para bovinos**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 184p.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: Academic Press, 2001. 381p.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S.C.; MACHADO, P.A.S.; CHIZZOTTI, M.L.; AMARAL, H.F.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPELLE, E.R. **CQBAL 3.0. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos**. Disponível em www.ufv.br/cqbal, Acesso em 15 de janeiro de 2017.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3583-3597, 1991.

Tecnologias de informação e precisão utilizadas para melhorar o desempenho da rotina de ordenha¹

Samuel Aloísio Toledo Silva^{2, 3}, Cláudio Antônio Versiani Paiva⁴, Vanessa Amorim Teixeira⁵, Alexandre Lima Ferreira⁶, João Paulo Pacheco Rodrigues⁶, Thierry Ribeiro Tomich⁷, Fernanda Samarini Machado⁷, Mariana Magalhães Campos⁷, Luiz Gustavo Ribeiro Pereira^{3, 7, 8}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fapemig, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, e do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

²Graduando em Medicina Veterinária da UFJF, Juiz de Fora/MG. E-mail: samuel.aloisio@hotmail.com

³Bolsista do CNPq

⁴Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: claudio.paiva@embrapa.br

⁵Aluno de pós-graduação da UFMG, Belo Horizonte/MG. E-mail: vanessateixeiraamorim@gmail.com

⁶Pós-doutorando, Embrapa/UFSJ, Juiz de Fora, MG. E-mail: axellfire@hotmail.com, joaopaulo0511@hotmail.com

⁷Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. E-mail: thierry.tomich@embrapa.br, fernanda.machado@embrapa.br, mariana.campos@embrapa.br, luiz.gustavo@embrapa.br

⁸Orientador

Resumo: A informação e o uso adequado de tecnologias de precisão podem ajudar o produtor a coletar, medir e analisar dados para apoiá-los na avaliação do desempenho da ordenha. Cinquenta e sete vacas Girolando foram ordenhadas em equipamento com medidores de leite eletrônicos, extrator automático e sistema de gerenciamento AlproTM (DeLaval, Estocolmo, Suécia). Os dados do tempo total de ordenha, número de vacas ordenhadas/hora, produção total de leite, produção/ordenhador/hora, tempo de ordenha, produção/vaca e o número de remoção automática dos conjuntos de ordenha foram automaticamente fornecidos pelo software de gerenciamento do sistema de ordenha. O experimento foi realizado durante 21 dias de acordo com um esquema fatorial de 2 × 2 para avaliar os efeitos dos ordenhadores (A ou B) e da rotina de ordenha (não padronizados ou padronizados). As comparações entre os tratamentos foram realizadas com contrastes ortogonais e a significância estatística foi considerada quando $P < 0,05$. Os resultados mostraram interação entre ordenhador e procedimentos de ordenha ($P < 0,05$). Independentemente da rotina de ordenha, o ordenhador A apresentou resultados superiores para a maioria dos parâmetros que avaliaram o desempenho do ordenhador ($P < 0,05$). Comparando ordenhadores separadamente, o ordenhador A melhorou os parâmetros de desempenho para os procedimentos padronizados comparados com os procedimentos não padronizados ($P < 0,05$), enquanto que nenhuma diferença foi observada no desempenho do ordenhador B ($P \geq 0,05$). Esses resultados evidenciam a importância do uso de tecnologias de precisão para identificação de falhas nos procedimentos de rotina de ordenha e a importância do comprometimento do ordenhador para melhorar o desempenho na ordenha.

Palavras-chave: automação, gerenciamento de dados, qualidade do leite, sistema de sensores, saúde do úbere

Information and precision technologies used for improving the milking routine performance

Abstract: Most of Brazilian farmers are not able to identify the impact of the milking routine procedures on the milking performance, usually because the information required is not ready available. Thus, the information and precision dairy technologies usage can help the farmer to collect, measure and analyze the data to support them on this subject. Fifty seven dairy crossbred Holstein x Gyr cows were milked in a double-4, herringbone parlor, fitted with electronic milk meters, automatic cluster remover and AlproTM Dairy Manager System software (DeLaval, Stockholm, Sweden). Data of total milking time, number of cows milked/hour, total

milk production, milk yield/milker/hour, milking cluster attachment time, milk yield/cow, and number of automatic milking cluster removal was automatically provided by the milking system software. The experimental was performed during 21 days according to a factorial 2×2 design to evaluate milker (A or B) and milking routine (non-standardized or standardized) effects. Comparisons among treatments were conducted with orthogonal contrasts and statistical significance was considered at $P < 0.05$. The results showed interaction between milking routine procedure and milker factors ($P < 0.05$). Within both milking routine, the Milker A showed better performance for most milker performance parameters compared to Milker B ($P < 0.05$). Within milker, the Milker A improved the milker performance parameters to the standardized compared to non-standardized milking routine procedures ($P < 0.05$), whereas no difference were observed within Milker B ($P \geq 0.05$). These results highlight the importance of precision dairy technologies usage to identify failures in the milking routine procedures, and hence improve the milking performance once the milker is committed to the procedures improvement.

Keywords: automation, data management, milk quality, sensors system, udder health

Introdução

Os produtores estão cada vez mais familiarizados com a adoção das tecnologias de pecuária leiteira de precisão disponíveis em alguns sistemas de ordenha (BORCHERS & BEWLEY, 2015) e motivos de sua adoção incluem a utilidade das informações do sistema de gerenciamento para a tomada de decisões confiáveis e a redução do trabalho de ordenha.

O uso de equipamentos de ordenha integrados com sistemas de gerenciamento de sensores e rebanhos está aumentando nas fazendas leiteiras brasileiras. Esses sistemas de ordenha permitem verificar dados individuais de ordenha e parâmetros de desempenho, como o tempo total gasto para ordenhar cada vaca, incluindo os horários de início e término, tempo de colocação do conjunto de ordenha, uso de remoção automática ou manual do conjunto de ordenha, produção de leite/vaca, entre outros. Para Borchers e Bewley (2015), os parâmetros de produção associados aos econômicos podem ajudar o gerente da fazenda a identificar pontos falhos durante a rotina de ordenha que geralmente leva à ineficiência na produção e nos custos trabalhistas. No presente objetivou-se avaliar os parâmetros de desempenho da ordenha, comparando rotinas padronizadas e não padronizadas e o trabalho de dois ordenhadores, pelo uso das tecnologias de precisão disponíveis no próprio sistema de ordenha.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Complexo Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária, na Embrapa gado de leite, em Coronel Pacheco/MG. Cinquenta e sete vacas da raça Girolando foram alojadas em um galpão tipo *free-stall*. As ordenhas ocorreram pela manhã, entre às 06h00 e às 08h00, e nas tardes, entre às 14h00 e às 16h00. Foi utilizada uma ordenha duplo quatro, linha baixa, equipado com medidores de leite eletrônicos MM27, controladores MPC 580/680, extrator automático de teteiras (ACR) e software AlproTM Manager System (DeLaval, Estocolmo, Suécia).

Os tratamentos diferiram nas etapas da rotina de ordenha realizadas. A rotina de ordenha não padronizada foi realizada sem uma sequência repetida e o uso do ACR foi determinado livremente por cada ordenhador. A rotina padronizada foi implementada no dia seguinte ao dia de treinamento dos ordenhadores ao novo procedimento de rotina de ordenha. A rotina de ordenha padronizada consistiu em seguir passos fixos a partir da primeira a última vaca, onde um lado da sala de ordenha teve a rotina terminada antes de iniciar o lado oposto, da seguinte maneira: (I) teste da caneca e pré-imersão de todas as tetas com desinfetante, seguindo da primeira a última vaca do mesmo lado do fosso de ordenha; (II) retorno à primeira vaca e secagem dos tetos e colocação do conjunto de ordenha, continuando para as próximas vacas; (III) uso obrigatório do ACR e uma vez que o conjunto de ordenha foi removido automaticamente, as tetas foram imediatamente pré-imersas em uma solução de iodo. As informações fornecidas pelo software do sistema de ordenha com base nos sistemas de sensores foram: (A) tempo total de ordenha/dia; (B) número de vacas ordenhadas/hora; (C) produção total de leite; (D) kg de leite/ordenhador/hora; (E) tempo de colocação do conjunto; (F) produção e leite/vaca; e (G) número de remoção automática/manual do conjunto de ordenha. Cada tratamento teve os dados registrados e analisados por 21 dias.

Os dados foram analisados em esquema fatorial 2 × 2 completamente aleatorizado, com o efeito fixo dos tratamentos (rotina de ordenha, ordenhador e rotina de ordenha x ordenhador) e o efeito aleatório da coleta diária de dados. As comparações entre os tratamentos foram realizadas com contrastes ortogonais, que incluíram uma comparação geral entre procedimentos de rotina de ordenha e ordenhadores. Foi verificada a associação entre variáveis pelo coeficiente de correlação de Pearson. Significância estatística foi considerada quando $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram interação entre o procedimento de rotina de ordenha e ordenhador ($P < 0,05$), indicando que os resultados para cada procedimento de rotina de ordenha foram influenciados pelos resultados do ordenhador (Tabela 1). Na comparação entre rotinas de ordenha, o ordenhador A mostrou tempos de ordenha e de colocação do conjunto menores e maiores valores para número de vacas ordenhadas/hora e kg de leite/ordenhador/hora ($P < 0,001$) em comparação com o ordenhador B. A rotina de pré-ordenha apresenta grande influência sobre o reflexo de ejeção do leite (BRUCKMAIER E BLUM, 1996), o qual, por sua vez, tem o tempo de colocação do conjunto como um importante parâmetro envolvido na medida da eficiência da rotina de ordenha (Rasmussen et al., 1990). Além disso, encontrou-se uma alta correlação positiva entre o tempo de colocação do conjunto de ordenha com o tempo total de ordenha ($r = 0,91$, $P < 0,01$), e inversamente ao número de vacas ordenhadas/hora ($r = -0,94$, $P < 0,01$) e à Kg de leite/ordenhador/hora ($r = -0,92$, $P < 0,01$). Os resultados de correlação explicam a importância do tempo de colocação do conjunto de ordenha para o desempenho geral da ordenha.

Tabela 1. Resultados médios dos parâmetros de desempenho da ordenha e produção, por tipo de rotina de ordenha (RO) e ordenhador (O)

Item	Rotina de ordenha/ordenhador				EPM	Valor de P		
	ONP		OP			RO	O	RO x O
	OA	OB	OA	OB				
Número de vacas ordenhadas/dia ²	113	115	114	105	0,98	NS	NS	NS
Tempo total de ordenha/dia(min) ¹	235	266	204	279	7	NS	***	*
Número de vacas ordenhadas/hora ¹	29	26	34	23	0,99	NS	***	**
Total de leite produzido/dia (kg) ²	1,098	1,104	1,104	1,038	12,11	NS	NS	NS
kg de leite/ordenhador/hora ¹	281	249	324	223	9,37	NS	***	*
Tempo de colocação do conjunto de ordenha (seg) ¹	162	217	94	225	14	*	***	*
Número de remoção automática do conjunto ¹	35	106	109	101	11	*	NS	*

¹Parâmetros de desempenho; ²parâmetros de produção. ONP = ordenha com procedimentos não padronizados, OP = ordenha com procedimentos padronizados, OA = ordenhador A, OB = ordenhador B, RO = rotina de ordenha, O = ordenhador. NS = Não Significativo; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

O ordenhador A mostrou melhor desempenho para o tempo de colocação do conjunto ($P = 0,02$) e número de remoções automáticas do conjunto ($P = 0,04$) para a rotina padronizada em comparação com a não padronizada. Os tempos de colocação do conjunto de ordenha para o ordenhador A diminuíram de 162 para 94 segundos, comparando o período anterior e posterior ao dia de treinamento ao novo procedimento de rotina de ordenha, respectivamente (Tabela 1). Nielsen & Rasmussen (1987) encontraram um intervalo de 60 a 90 segundos desde o início da preparação do úbere até a colocação do conjunto como ótimo, o que está de acordo com este estudo. Isso representa grande impacto para a economia da fazenda. Este tipo de avaliação é essencial para as decisões estratégicas quanto à escolha do perfil do funcionário e da avaliação do desempenho. Outro importante parâmetro de desempenho do ordenhador diz respeito ao número de remoção automática do conjunto. Um dispositivo ACR tende a melhorar a saúde do úbere, diminuindo a sobre ordenha (RASMUSSEN, 1993). O número de remoções do conjunto para o ordenhador A aumentou de 35 para 109 remoções automáticas ($P < 0,05$) comparando o procedimento de rotina de ordenha não padronizado com padronizado, respectivamente. Não foram observadas melhorias para o ordenhador B aos parâmetros acima mencionados ($P \geq 0,05$),

uma vez que os tempos de colocação do conjunto de ordenha aumentaram de 217 para 225 segundos e o número de remoção de conjuntos diminuiu de 106 para 101 remoções automáticas, respectivamente. Esses resultados mostraram forte interação ($P < 0,01$) dos fatores de tratamento, em que a vontade do ordenhador para mudar para uma nova rotina de ordenha pode ser determinante para o sucesso do desempenho da ordenha como um todo. Os parâmetros de produção como número de vacas ordenhadas e produção total de leite não apresentaram diferença ($P \geq 0,05$) na comparação entre rotinas de ordenha.

O uso de tecnologias de pecuária de precisão, conforme descrito neste estudo, torna a identificação de problemas no procedimento de rotina de ordenha menos laboriosa e mais confiável. Essas tecnologias permitem ao produtor assumir o controle (proativamente) da operação, tomar decisões mais rápidas (em tempo real), visando aumentar o desempenho bioeconômico do sistema produtivo.

Conclusões

O uso de informações e tecnologias de pecuária leiteira de precisão pode ajudar os produtores a identificar desvios nos procedimentos de rotina de ordenha e, portanto, melhorar o desempenho na rotina de ordenha com a adoção de procedimentos padronizados. No entanto, o sucesso de qualquer nova adoção de rotina de ordenha depende da vontade do ordenhador de mudar os velhos hábitos.

Referências

BORCHERS, M.R.; BEWLEY, J.M. An assessment of producer precision dairy farming technology use, prepurchase considerations, and usefulness. **Journal Dairy Science**, v.98, p.4198-4205, 2015.

BRUCKMAIER, R.M., BLUM, J.W. Simultaneous recording of oxytocin release, milk ejection and milk flow during milking of dairy cows with and without pre-stimulation. **Journal of Dairy Research**, v.63 p.201-208, 1996.

NIELSEN, S.M., RASMUSSEN, M.D. **Milking routines and equipment for tie up cow sheds**. In: CATTLE PROD. RES. DANISH STATUS AND PERSPECTIVES. Landhusholdningsselskabets Forlag: Copenhagen, Denmark, p.155, 1987.

RASMUSSEN, M.D., FRIMER, E.S., HORVATH, Z., JENSEN, N.E. Comparison of a standardized and variable milking routine. **Journal of Dairy Research**, v.73, p.3472-3480, 1990.

RASMUSSEN, M.D. Influence of switch level of automatic cluster removers on milking performance and udder health. **Journal of Dairy Research**, v.60, p.287-297, 1993.

Tolerância de clones de *Brachiaria ruziziensis* ao sombreamento¹

Renata Sousa Alves da Silva², Carlos Renato Tavares de Castro³, Flávio Rodrigo Gandolfi Benites³, Fausto Souza Sobrinho^{3,4}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil

²Graduanda em Ciências Biológicas – CES/JF - Bolsista PIBIC CNPq. E-mail: renatasas04@gmail.com

³Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: carlos.castro@embrapa.br, flavio.benites@embrapa.br, fausto.souza@embrapa.br

⁴Orientador

Resumo: Nos sistemas integrados de produção o sombreamento imposto pelo componente arbóreo ou pelas lavouras pode afetar o estabelecimento e crescimento de forrageiras, em função da maior ou menor disponibilidade da radiação. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a tolerância de clones melhorados de *B. ruziziensis* ao sombreamento. Foram avaliados 28 clones de *B. ruziziensis* mais duas testemunhas (cultivares Marandu e Basilisk), em delineamento de blocos casualizados completos em esquema fatorial (30 x 2). As plantas foram avaliadas sob sol pleno e também sob sombreamento (50% de restrição da luminosidade). Os resultados das análises de variância mostraram diferenças significativas entre clones para todas as características consideradas, evidenciando a existência de variabilidade genética dentro de *B. ruziziensis* para a tolerância ao sombreamento. Também foi verificado efeito significativo da condição de cultivo das plantas, mostrando que o sombreamento afeta o desenvolvimento das plantas. Por outro lado, as interações entre clones e condição de cultivo não foram significativas, indicando que o desenvolvimento dos clones de *B. ruziziensis* é consistente no sol e na sombra. Os clones 764, 682, 93, 694 e 696 apresentaram desempenho superior e poderão ser utilizados dentro do programa de melhoramento visando a obtenção de materiais genéticos mais adaptados às condições de cultivo onde haja restrição de luminosidade.

Palavras-chave: melhoramento genético, sistema silvipastoril, restrição de luminosidade, sombra

Tolerance of *Brachiaria ruziziensis* clones to shading

Abstract: In the integrated systems of production the shading imposed by the tree component or by the crops can affect the establishment and growth of fodder, due to the greater or less availability of the radiation. The objective of the present work was to evaluate the tolerance of *B. ruziziensis* improved clones to shading. Twenty eight clones of *B. ruziziensis* plus two controls (Marandu and Basilisk cultivars) were evaluated in a complete randomized block design in a factorial scheme (30 x 2). The plants were evaluated under full sun and also under shading (50% of restriction of luminosity). The results of the analysis of variance showed significant differences between clones for all the considered characteristics, evidencing the existence of genetic variability within *B. ruziziensis* for the tolerance to shading. Also significant effect of the condition of cultivation of the plants was verified, showing that the shading affects the development of the plants. On the other hand, interactions between clones and culture condition were not significant, indicating that the development of *B. ruziziensis* clones is consistent in sun and shade. Clones 764, 682, 93, 694 and 696 presented superior performance and could be used within the breeding program to obtain genetic material more adapted to the conditions of cultivation where there is a restriction of luminosity.

Keywords: genetic enhancement, restriction of brightness, shadow, system silvipastoril

Introdução

Grande parte das áreas das pastagens brasileiras apresenta algum nível de degradação, o que contribui para a redução da produtividade animal. Uma alternativa de intensificação da exploração da terra é a integração entre lavouras, pecuária e floresta (ILPF). Dentro da ILPF, os sistemas silvipastoris (SSP) visam otimizar o uso da energia solar, a conservação da umidade do solo e a reciclagem de nutrientes através do uso sustentável da terra e dos recursos naturais por meio da associação natural ou planejada de pastagens com espécies arbóreas. Tal modo segue uma tendência chamada “Pecuária Ecológica” resultado da atual e crescente preocupação ambiental (FERNANDES, 2015). Entretanto, o sombreamento imposto pelo componente arbóreo pode afetar o estabelecimento e crescimento de forrageiras, em função da maior ou menor disponibilidade da radiação.

As forrageiras tropicais estão adaptadas a ambientes com disponibilidade de luz constante e o sombreamento seja parcial ou não pode afetar diretamente a sua produtividade (CARVALHO, 1998). Apesar de o ambiente influenciar a produtividade de forrageiras, a adequação do cultivo, principalmente de *Brachiaria* (Trin.) Griseb (sin. *Urochloa* P. Beauv) (SHIRASUNA, 2015) se deve eminentemente à sua excelente adaptabilidade a diversos sistemas de produção e condições edafoclimáticas. De acordo com Dias (2002) a *B. ruziziensis* apresenta grande plasticidade fenotípica e tolerância ao sombreamento. Além do mais, conforme Souza Sobrinho e Benites (2016) esta espécie forrageira apresenta grande variabilidade genética para a maioria das características de importância forrageira. Assim sendo, essa variabilidade genética pode ser explorada visando a identificação e seleção de plantas mais tolerantes ao sombreamento, tornando-a mais adaptada aos sistemas integrados de produção (ILPF).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a tolerância de clones melhorados de *B. ruziziensis* ao sombreamento.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, Minas Gerais, utilizando um telado coberto por sombrite (restrição da luminosidade de 50%). Foram avaliados 28 clones de *B. ruziziensis* mais duas testemunhas (cultivares Marandu e Basilisk, respectivamente *B. brizantha* e *B. decumbens*), em delineamento de blocos casualizados completos em esquema fatorial (30 x 2). As plantas foram avaliadas sob sol pleno e também sob sombreamento (50% de restrição da luminosidade). As plantas de cada um dos materiais genéticos foram clonadas por meio de estacas maduras para a obtenção de mudas que foram cultivadas em vasos de 5 L contendo substrato à base de terra, areia e esterco (1:1:1).

Procedeu-se a realização de um corte de uniformização cerca de 60 dias após a implantação do experimento (junho de 2016). O corte de avaliação ocorreu no final de outubro, quando as plantas apresentavam 45 dias de crescimento. Foram mensuradas a altura das plantas (base do vaso até o topo da planta), e o vigor (notas variando de 1 a 5, onde 1 corresponde à plantas com baixo vigor, e 5 à plantas muito vigorosas) das plantas e o peso verde da forragem (corte à 10 cm de altura).

Os dados foram submetidos à análise estatística e as médias foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott (SK).

Resultados e Discussão

Os resultados das análises de variância mostraram diferenças significativas entre clones para todas as características consideradas, evidenciando a existência de variabilidade genética dentro de *B. ruziziensis* para a tolerância ao sombreamento. Também foi verificado efeito significativo da condição de cultivo das plantas, mostrando que o sombreamento afeta o desenvolvimento das plantas. Por outro lado, as interações entre clones e condição de cultivo não foram significativas, indicando que o desenvolvimento dos clones de *B. ruziziensis* é consistente no sol e na sombra. Assim sendo, os resultados deste trabalho serão apresentados com base nas médias gerais (sol e sombra) dos clones.

A altura média das plantas foi de 52 cm, variando de 33 a 62 cm. As médias dos clones de *B. ruziziensis* foram separadas em quatro grupos distintos pelo teste de Scott-Knott, sendo os que 13 clones mostraram-se tão altos quanto as testemunhas (56 cm) com média de 58 cm de altura das plantas.

A amplitude de variação para as notas de vigor foi de 2,54 correspondendo à 80,6% da média geral para essa característica. Os clones foram agrupados em 3 conjuntos distintos pelo

teste de Scott-Knott, com destaque para o clone 764 que apresentou nota de vigor (4,46) estatisticamente igual à cultivar Basilisk (4,67). Os clones 42, 69, 768, 767, 694 e 107 foram aqueles que obtiveram piores notas de vigor das plantas, com média de 2,45.

Em relação ao peso verde de forragem, a amplitude de variação das médias dos clones foi de 44,5 g/planta que representa 87,8% da média geral de todos os genótipos avaliados. Apesar dessa grande variação entre as médias e a detecção de diferenças significativas pelo teste F da análise de variância, o teste de Scott-Knott não foi capaz de separar as médias em grupos distintos. De qualquer forma, observaram-se clones com produtividade de forragem semelhante às cultivares Marandu e Basilisk, que são as principais cultivares de braquiária cultivadas no Brasil (SOUZA SOBRINHO; BENITES, 2016).

Considerando-se as condições de cultivo, de forma geral as plantas mostraram-se mais altas e com maior peso verde da forragem em sol pleno. Esses resultados confirmam a maior adaptação das braquiárias, que são espécies tropicais, ao cultivo em ambientes com disponibilidade de luz constante e que o sombreamento seja parcial ou não pode afetar diretamente a sua produtividade (CARVALHO, 1998). Apresentaram maiores notas de vigor quando cultivadas sob a sombra. Estas notas de vigor mais altas na sombra provavelmente se devem às folhas mais largas e o verde mais intenso que ocorre quando as plantas são cultivadas nessas condições.

Considerando-se todas as características avaliadas, observa-se que os clones 764, 682, 93, 694 e 696 apresentaram desempenho superior e poderão ser utilizados dentro do programa de melhoramento visando a obtenção de materiais genéticos mais adaptados às condições de cultivo onde haja restrição de luminosidade.

Conclusões

Apesar da produção de forragem e a altura de plantas de *B. ruziziensis* serem maiores no sol do que na sombra, conclui-se que existe variabilidade genética dentro de *B. ruziziensis* para a tolerância ao sombreamento e através disso é possível identificar e selecionar clones mais tolerantes a essa condição.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro.

Referências

CARVALHO, M. M. Efeito do sombreamento na produtividade e na qualidade da forragem em pastagens. In: **Congresso Brasileiro de Biometeorologia**. Goiânia: Sociedade Brasileira de Biometeorologia, p. 99-117, 1988.

CASTRO, C.R.T et al. Produção forrageira de gramíneas cultivadas sob luminosidade reduzida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.919-927, 1999.

CASTRO, C.R.T et al. Características agrônômicas, massa de forragem e valor nutritivo de *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 60, p. 19, 2010.
DIAS-FILHO, M. B. Photosynthetic light response of the C4 grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 65-68, 2002.

FERNANDES, C.F. **Avaliação de Gramíneas Forrageiras Tropicais Submetidas a Diferentes Níveis de Sombreamento**. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, p. 27, 2015.

SHIRASUNA, R.T. *Brachiaria* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

SOUZA SOBRINHO, F. de; BENITES, F. R. G. Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis*: histórico e estratégias. In: WORKSHOP SOBRE CITOGENÉTICA E GENÉTICA MOLECULAR APLICADAS AO MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS,1, Lavras, MG, 2015. **Anais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 198.). p. 27-37, 2016.

Triagem de acessos de gramínea do gênero *Paspalum* em casa de vegetação com vistas à avaliação da divergência nutricional das forragens¹

Kívia Real Chemp^{2,3}, Vanessa Amorim Teixeira^{3,4}, Tânia Dayana do Carmo⁴, Alessandra Pereira Fávero⁵, Frederico de Pina Matta⁵, Sandra Gesteira Coelho^{3,6}, Luiz Gustavo Ribeiro Pereira^{3,7}, Ângela Maria Quintão Lana^{3,6}, Thierry Ribeiro Tomich^{7,8}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

²Graduanda em Medicina Veterinária – Unipac, Juiz de Fora/MG. E-mail: kiviachemp@yahoo.com.br

³Bolsista do CNPq

⁴Aluno de pós-graduação da UFMG, Belo Horizonte/MG. E-mail: vanessateixeiraamorim@gmail.com, taniad.carmo@gmail.com

⁵Pesquisador, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos/SP. E-mail: alessandra.favero@embrapa.br, frederico.matta@embrapa.br

⁶Professor da UFMG, Belo Horizonte/MG. E-mail: angelaquintao@gmail.com, sandragesteriacoeelho@gmail.com

⁷Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. E-mail: luiz.gustavo@gmail.com, thierry.tomich@embrapa.br

⁷Orientador

Resumo: Vinte e dois acessos de *Paspalum* foram avaliados em casa de vegetação visando triagem para futuro estudo quanto à divergência nutricional. Os dados foram analisados considerando efeito fixo de acessos e aleatório de unidade experimental. Para o índice de germinação considerou-se ainda a época de plantio como efeito aleatório. As comparações entre acessos foram feitas pelo teste de agrupamentos de Scott-Knott ($P < 0,05$) e foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman entre as variáveis. Foram verificadas diferenças entre acessos quanto ao peso de 100 sementes e índice de germinação, com a formação de 15 e nove agrupamentos de acessos e variações de 70,9 a 499,1 mg e 1,7% a 94,3%, respectivamente. Aos 45 dias após o plantio, o teor de matéria seca (MS) da parte aérea diferiu entre dois agrupamentos de acessos, com o menor teor de 13,5% a 18,5% e o maior de 19,1% a 22,8%. Foram observados seis agrupamentos distintos para o acúmulo diário de MS em parte aérea por planta, com a média mais elevada de 3,1 mg/d obtida pelo BGP 15 e as médias mais baixas, de 1,2 e 1,3 mg/d, obtidas pelos BGP 341 e 227. O acúmulo diário de MS foi positivamente correlacionado ao peso das sementes ($\rho = 0,32$; $P < 0,01$). O BGP 258 apresentou as plantas mais altas, 37,8 cm, e as mais baixas foram notadas para os BGP 148, 205 e 227, com médias de 16,1 a 16,8 cm. Os BGP 258 e 248 apresentaram folhas mais compridas, médias de 29,2 e 29,6 cm, e os BGP 227 e 148 folhas mais curtas, 11,2 e 11,8 cm. Já as folhas mais largas foram notadas para o BGP 6, 1,86 cm, e as mais estreitas para o BGP 341, 0,36 cm. Devido ao baixo índice de germinação, indica-se a exclusão do acesso BGP 341 para estudos subsequentes. A ampla variação nos componentes da parte aérea pode favorecer a ocorrência de divergências entre agrupamentos destes acessos quanto ao valor nutritivo.

Palavras-chave: acúmulo de matéria seca, caracterização da parte aérea, índice de germinação

Screening of accessions of the genus *Paspalum* in greenhouse for evaluation of nutritional divergence of forages

Abstract: Twenty-two accessions of *Paspalum* were evaluated in greenhouse for screening to compose a future study about nutritional divergence. Data were analyzed considering the fixed effect of accessions and experimental unit as random effect. For the germination index, the planting period was additionally considered as a random effect. Means were compared using the Scott-Knott test ($P < 0.05$) and Spearman correlation coefficient was calculated between variables. There were differences between accessions for weight of 100 seeds and germination index, with 15 and 9 clusters of accessions and variations of 70.9 to 499.1 mg and 1.7% to

94.3%, respectively. At 45 days after planting, dry matter (DM) content of the aerial part differed between two clusters of accessions, the lowest content was from 13.5% to 18.5% and the highest from 19.1% to 22.8%. Six distinct clusters of accessions were observed for daily accumulation of DM in aerial part, the highest mean of 3.1 mg/d was obtained by BGP 15 and the lowest, 1.2 and 1.3 mg/d, were obtained by accessions BGP 341 and 227. Daily DM accumulation was positively correlated to seed weight ($\rho=0.32$, $P<0.01$). BGP 258 presented highest plants, 37.8 cm, and the lowest plants, from 16.1 to 16.8 cm height, were noted for BGPs 148, 205 and 227. Accessions BGP 258 and 248 presented the longest leaves, 29.2 and 29.6 cm, and BGP 227 and 148 the shorter leaves, 11.2 and 11.8 cm. Wider leaves were observed for BGP 6, 1.86 cm, and the narrower for BGP 341, 0.36 cm. Due to the low germination index, it is indicated the exclusion of BGP 341 for subsequent studies. The large variation for components of aerial part may favor occurrence of divergences between clusters of these accessions on nutritive value.

Keywords: aerial part characterization, dry matter accumulation, germination index

Introdução

A ampla adaptação de gramíneas do gênero *Paspalum* a diversos ecossistemas faz com que ocorra naturalmente nas diferentes regiões do País. O fato das espécies deste gênero comporem ecossistemas nativos, associado à sua grande variabilidade intra e interespecífica e à necessidade de redução dos perigos decorrentes da vulnerabilidade genética por extensas áreas cobertas por número restrito de cultivares de forrageiras exóticas avalizam a importância das espécies de *Paspalum* para emprego em pastagens cultivadas (BATISTA & GODOY, 2000) e têm promovido os programas de melhoramento de forrageiras com este gênero.

Com foco na produção animal, as informações sobre valor nutritivo devem ser incluídas como variáveis discriminatórias para a seleção de genótipos nos programas de melhoramento de forrageiras e os estudos sobre a divergência nutricional têm sido indicados para esta finalidade (AZEVEDO et al., 2003). Conduto, avaliações dos descritores reprodutivos, vegetativos e agronômicos devem preceder os estudos sobre valor nutritivo, uma vez que direcionam a triagem de genótipos mais aptos para a produção vegetal. Objetivou-se com este estudo fazer a triagem de acessos de gramínea do gênero *Paspalum* em casa de vegetação com vistas à condução de estudo posterior abordando a divergência nutricional das suas forragens.

Material e Métodos

Vinte e dois acessos de gramínea do gênero *Paspalum* oriundos do banco ativo de germoplasma da Embrapa Pecuária Sudeste tiveram três conjuntos de 100 sementes pesadas em balança analítica de precisão (Shimadzu modelo AUY220, Shimadzu do Brasil, Barueri/SP). Para cada um dos acessos, os três conjuntos de 100 sementes tiveram as sementes individualmente depositadas em células de 12,5 mL de bandejas plásticas contendo substrato para produção de mudas (Carolina II, Carolina Soil do Brasil, Pardinho/SP). Dois plantios foram conduzidos nos meses de fevereiro e abril de 2017 utilizando-se casa de vegetação do Campo Experimental José Henrique Bruschi da Embrapa, em Coronel Pacheco/MG.

A germinação das sementes foi acompanhada diariamente por 28 dias e foi considerado o resultado por bandeja para gerar o índice de germinação. Aos 45 dias após o plantio, foram coletadas 10 plantas de cada badeja, as partes aéreas foram individualmente medidas em comprimento, pesadas e separadas em folhas e hastes. As folhas foram medidas em comprimento e largura. Após a pesagem, a parte aérea foi seca em estufa de ventilação forçada a 55-60 °C até peso constante, com posterior análise do conteúdo de MS (AOAC, 1990; método número 930.15). Peso e MS da parte aérea foram utilizados para cálculo do acúmulo de MS.

Os dados foram analisados considerando o efeito fixo de acesso ($n = 22$) e efeito aleatório de unidade experimental $n = 3$ (bandejas de cultivo). Para o índice de germinação, considerou-se ainda o período de plantio ($n = 2$) como efeito aleatório. A significância estatística foi considerada quando $P \leq 0,05$ e, neste caso, os acessos foram comparados pelo teste de agrupamentos de *Scott-Knott* ($P < 0,05$). Adicionalmente, foi verificada a associação entre variáveis pelo coeficiente de correlação de postos de *Spearman*.

Resultados e Discussão

O peso de 100 sementes variou entre os acessos, com a formação de 15 agrupamentos distintos ($P < 0,05$). As médias mais baixas de 70,1 e 77,5 mg situaram abaixo do valor mínimo correspondendo a 151 mg observado por Lopes et al. (2017), enquanto a atual média mais alta de 499,1 mg foi similar à mais alta correspondente a 479 mg observado por esses autores. Não houve efeito de época de plantio sobre o índice de germinação ($P = 0,16$), mas foi notada ampla variação na germinação das sementes dos vários acessos, com formação de nove agrupamentos ($P < 0,05$) e médias extremas, como o mais baixo índice de 1,7% de germinação para as sementes do acesso BGP 341 e o mais alto de 94,3% para o BGP 98 (Tabela 1). Entre os fatores que influenciam negativamente a germinação das sementes de forrageiras destaca-se a proporção de sementes vazias. Contrariando este fato, neste estudo foi verificada correlação negativa de peso das sementes com índice de germinação ($\rho = -0,24$; $P < 0,01$), o que pode ser explicado pela classificação prévia das sementes ora utilizadas. Baixos índices de germinação, como aqueles inferiores a 15% relatados por Scheffer-Basso et al. (2007), é um dos entraves para implantação de pasto cultivado com *Paspalum*. Logo, a seleção de acessos cujas sementes apresentam mais elevados índices de germinação pode favorecer o uso de gramíneas do gênero para formação de pastagens e deve ser um item discriminatório para a seleção de novos genótipos.

Tabela 1. Peso de 100 sementes, índice de germinação, teor de matéria seca (MS), acúmulo diário de MS por planta, altura da planta, comprimento e largura de folha de 22 acessos de *Paspalum*

Acesso	Peso de 100 sementes (mg)	Índice de germinação (%)	MS (%)	Acúmulo de MS (mg/d)	Altura da planta (cm)	Folha (cm)	
						Comprimento	Largura
BGP 6	77,5 ^O	74,3 ^C	15,6 ^B	2,6 ^B	24,0 ^F	15,4 ^H	1,86 ^A
BGP 11	499,1 ^A	46,5 ^F	17,3 ^B	2,7 ^B	19,4 ^H	14,2 ^I	0,70 ^F
BGP 15	312,9 ^F	61,7 ^D	18,5 ^B	3,1 ^A	27,9 ^D	22,4 ^D	0,63 ^G
BGP 98	280,3 ^H	94,3 ^A	15,8 ^B	2,7 ^B	21,7 ^G	16,3 ^G	0,63 ^G
BGP 123	199,5 ^K	63,2 ^D	15,7 ^B	2,5 ^B	20,1 ^H	14,0 ^I	0,85 ^D
BGP 148	397,7 ^C	36,5 ^G	20,9 ^A	2,0 ^D	16,1 ^I	11,8 ^J	1,00 ^B
BGP 150	342,8 ^E	38,2 ^G	19,1 ^A	1,8 ^D	24,4 ^F	17,7 ^F	0,59 ^G
BGP 159	458,9 ^B	37,2 ^G	21,2 ^A	2,1 ^C	26,7 ^E	20,3 ^E	0,78 ^E
BGP 163	353,7 ^D	37,7 ^G	21,2 ^A	1,9 ^D	21,8 ^G	15,5 ^H	0,89 ^C
BGP 164	293,1 ^G	24,3 ^H	18,2 ^B	2,3 ^C	32,0 ^C	24,6 ^C	0,68 ^F
BGP 205	291,3 ^G	45,7 ^F	21,3 ^A	2,2 ^C	16,8 ^I	13,4 ^I	0,73 ^E
BGP 215	157,3 ^M	83,7 ^B	15,4 ^B	1,5 ^E	36,1 ^B	27,9 ^B	0,63 ^G
BGP 227	70,1 ^O	43,3 ^F	22,8 ^A	1,3 ^F	16,4 ^I	11,2 ^J	0,71 ^F
BGP 248	198,5 ^K	54,8 ^E	17,6 ^B	2,1 ^C	35,7 ^B	29,2 ^A	0,54 ^H
BGP 258	209,8 ^J	74,8 ^C	16,4 ^B	1,8 ^D	37,8 ^A	29,7 ^A	0,67 ^F
BGP 262	228,4 ^I	76,7 ^B	17,0 ^B	2,8 ^B	24,1 ^F	17,2 ^G	0,92 ^C
BGP 308	299,2 ^G	72,2 ^C	15,8 ^B	2,6 ^B	20,1 ^H	14,0 ^I	0,81 ^D
BGP 341	183,0 ^L	1,7 ^I	15,2 ^B	1,2 ^F	33,2 ^C	24,6 ^C	0,36 ^I
BGP 343	274,9 ^H	79,7 ^B	20,5 ^A	1,7 ^D	24,7 ^F	18,1 ^F	0,85 ^D
BGP 344	127,1 ^N	27,3 ^H	13,4 ^B	1,5 ^E	22,5 ^G	16,8 ^G	0,52 ^H
BGP 345	184,3 ^L	82,2 ^B	16,3 ^B	1,4 ^E	32,3 ^C	23,9 ^C	0,49 ^H
BGP 379	206,3 ^J	80,0 ^B	20,1 ^A	1,6 ^D	18,6 ^H	13,3 ^I	0,84 ^D
EPM	44,8	9,8	1,7	0,14	1,35	1,14	0,06
P-Valor	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de agrupamentos de Scott-Knott ($P < 0,05$). EPM = erro padrão da média.

Foram obtidos apenas dois agrupamentos diferentes ($P < 0,05$) de acessos quanto ao teor de MS da parte aérea, com o de menor teor variando de 13,5% a 18,5% e o de maior de 19,1% a 22,8%. O acúmulo diário de MS por planta foi distribuído em seis agrupamentos distintos ($P < 0,05$), com o maior acúmulo de 3,1 mg/d foi obtido pelo BGP 15 e as médias mais baixas, de

1,2 e 1,3 mg/d, obtidas pelos BGP 341 e 227. O acúmulo de MS foi positivamente correlacionado ao peso das sementes ($\rho=0,32$; $P<0,01$), indicando a relevância de reserva na semente para favorecer o desenvolvimento inicial das plantas desses acessos.

Foi verificada ampla diferença entre acessos para as variáveis que caracterizaram a parte aérea das plantas. Nesse sentido observou-se a formação de nove agrupamentos distintos ($P<0,05$) para altura das plantas, tendo o BGP 258 apresentando as plantas mais altas, com a média 37,8 cm, e as mais baixas sendo notadas para os BGP 148, 205 e 227, com médias de 16,1 a 16,8 cm. Incoerentemente, se verificou correlação negativa da altura das plantas com o acúmulo diário de MS ($\rho=-0,09$; $P=0,01$), mas este fato está relacionado à ocorrência da correlação também negativa da altura com o teor de MS ($\rho=-0,26$; $P=0,02$). Foram formados 10 agrupamentos diferentes ($P<0,05$) de acessos quanto ao comprimento médio das folhas, com os BGP 258 e 248 apresentando folhas mais compridas, 29,2 e 29,6 cm, e os BGP 227 e 148 folhas mais curtas, 11,2 e 11,8 cm. Já a média de largura das folhas foi composta em nove agrupamentos de acessos ($P<0,05$), com as folhas mais largas notadas para o BGP 6, 1,86 cm, e as mais estreitas para o BGP 341, 0,36 cm. A largura das folhas foi positivamente correlacionada ao acúmulo de MS ($\rho=0,28$; $P<0,01$) e negativamente correlacionada com o comprimento das folhas ($\rho=-0,37$; $P<0,01$). Embora ainda em estágio inicial de desenvolvimento das plantas, as diferenças aqui observadas para as variáveis que caracterizaram a parte aérea desses acessos podem resultar em diferenças anatômicas importantes na planta forrageira que será consumida pelos animais, como a proporção de tecidos e a espessura da parede celular, que, segundo Paciullo (2002), apresentam altas correlações com variáveis associadas ao valor nutritivo, como teores de fibra e proteína e coeficiente de digestibilidade.

Conclusões

Devido ao baixo índice de germinação médio observado para as sementes do BGP 341 em dois plantios consecutivos, indica-se sua exclusão para os estudos subsequentes. A ampla variação observada para as variáveis que caracterizaram a parte aérea das plantas pode favorecer a ocorrência de divergências entre agrupamentos destes acessos quanto ao valor nutritivo e o uso de variáveis associadas ao valor nutritivo como discriminatórias para seleção de genótipos.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao apoio conferido pelo SEG/Embrapa e pela Fapemig.

Referências

- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15.ed., Washington, D.C.: AOAC, 1990. 1298p.
- BATISTA, L.A.R.; GODOY, R. Caracterização Preliminar e Seleção de Germoplasma do Gênero *Paspalum* para Produção de Forragem **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.23-32, 2000.
- LOPES, R.R.; SOUZA, C.H.L.; PEREIRA, E.A.; GASPARETTO, B.F.; DALL'AGNOL, M.; FRANKE L.B. Genetic variability of the components of seed yield in interspecific hybrids of *Paspalum*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.46, n.4, p.296-302, 2017.
- PACIULLO, D.S.C. Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p.357-364, 2002.
- SCHEFFER-BASSO, S.M.; TRENTINI, V.; BARÉA, K. Manejo de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro. 2. Produção de sementes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1022-1028, 2007.

Utilização de ferramentas genômicas na pré-seleção de touros para o Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro¹

Kevin Schefer dos Santos^{2,3}, Sane Neves Barbosa³, Hyago Passe Pereira⁴, Rosana Isabel da Costa Nascimento³, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza⁵, Marta Fonseca Martins⁶, João Cláudio do Carmo Panetto⁶, Marcos Vinicius Gualberto Barbosa da Silva⁶, Marco Antonio Machado^{6,7}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte do projeto "Seleção Genômica em Raças Bovinas Leiteiras no Brasil", liderado por Marcos Vinicius Gualberto B. Silva.

²Bolsista PIBIC CNPq.

³Graduando em Biologia - Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora – CES/JF

⁴Mestrando em Biologia - Universidade Federal de Juiz de Fora

⁵Analista, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora/MG

⁶Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. E-mail: marco.machado@embrapa.br

⁷Orientador

Resumo: O Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro – PNMGL, uma parceria entre a Associação Brasileira dos Criadores de Gir Leiteiro – ABCGIL e a Embrapa Gado de Leite, teve o início de seus trabalhos em 1985 com o objetivo de promover o melhoramento genético da raça para produção de leite. Com os recentes resultados das pesquisas em seleção genômica na Embrapa Gado de Leite, a ABCGIL e a Embrapa ofereceram aos seus associados, pela primeira vez em 2016, um "pré-teste genômico" que objetiva ranquear os candidatos a ingressarem na Prova de Pré-Seleção de Touros para o Teste de Progênie, favorecendo o processo de escolha dos melhores tourinhos. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi utilizar ferramentas genômicas capazes de auxiliar o produtor na escolha dos melhores tourinhos a serem avaliados no teste de progênie de touros do PNMGL. Um total de 56 tourinhos, pertencentes a 15 criadores foram genotipados com o Neogen Z-CHIP e o valor genômico estimado (GEBV) para cada um. Os valores de GEBV foram utilizados para gerar um rank dos tourinhos para produção de leite, que foi eficiente para discriminar os animais enviados por cada produtor, permitindo a escolha dos candidatos com maior potencial para participação no teste de progênie da ABCGIL.

Palavras-chave: bovinos, genética molecular, melhoramento animal, zebuínos

Use of genomic tools to pre-select bulls for the Brazilian Dairy Gir Genetic Improvement Program

Abstract: The Brazilian Dairy Gir Genetic Improvement Program (PNMGL), a partnership between the Brazilian Dairy Gir Breeders Association - ABCGIL and Embrapa Dairy Cattle, began its activities in 1985 with the objective of promoting the genetic improvement of the Gir breed for milk production. With the recent advances in the genomic selection research conducted at Embrapa, ABCGIL and Embrapa offered their associates, for the first time in 2016, a "genomic pre-test" that aims to rank the candidates to enter the pre-selection of bulls for the progeny test, favoring the process of choosing the best young candidates. Thus, the objective of this work was to use genomic tools in order to assist the producer in choosing the best bulls to be evaluated in the PNMGL sire progeny test. A total of 56 bulls belonging to 15 breeders were genotyped with the Neogen Z-CHIP and had their estimated genomic value (GEBV) calculated. The GEBV values were used to generate a rank of bulls for milk production, which was efficient to discriminate the animals sent by each producer and allowed the selection of bull candidates with the best potential for participating in the ABCGIL progeny test.

Keywords: bovine, molecular genetics, animal breeding, zebuine

Introdução

O Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro – PNMGL, uma parceria entre a Associação Brasileira dos Criadores de Gir Leiteiro – ABCGIL e a Embrapa Gado de Leite, teve o início de seus trabalhos em 1985 com o objetivo de promover o melhoramento genético da raça

para produção de leite. Além da avaliação genética para volume de leite, o Programa disponibiliza informações para características de composição do leite, conformação e manejo, além da genotipagem dos touros para os alelos da kapa-caseína, beta-lactoglobulina, beta-caseína e também para os alelos deletérios das doenças DUMPS, BLAD e CVM, fornecendo assim aos produtores, ferramentas moleculares importantes para sua utilização tanto na raça pura quanto em cruzamentos com outras raças leiteiras.

Visando a melhoria dos reprodutores que entram em Prova, a partir de 2009, ABCGIL, Embrapa e Fazu iniciaram uma nova etapa na evolução técnica do PNMGL, a Prova de Pré-Seleção de Touros para o Teste de Progênie. Nesta prova, são avaliadas características reprodutivas (congelabilidade, motilidade, defeitos maiores e menores, etc.) ligadas à produção comercial de sêmen nos tourinhos candidatos ao TP. Atualmente, além destas características seminais, estão sendo estudadas características funcionais, como temperamento, libido e característica de conformação.

Com os recentes resultados das pesquisas em seleção genômica na Embrapa Gado de Leite, a ABCGIL e a Embrapa ofereceram aos seus associados um “pré-teste genômico” que objetiva ranquear os candidatos a ingressarem na Prova de Pré-Seleção de Touros para o Teste de Progênie, favorecendo o processo de escolha dos melhores tourinhos.

O objetivo deste trabalho foi utilizar ferramentas genômicas capazes de auxiliar o produtor na escolha dos melhores tourinhos a serem avaliados no teste de progênie de touros do PNMGL.

Material e Métodos

O DNA de 56 tourinhos da raça Gir Leiteiro foi extraído a partir de amostras de sangue, utilizando um protocolo adaptado de Sambrook e Russel (2001). A quantidade e qualidade das amostras de DNA foram determinadas utilizando o espectrofotômetro NanoDrop (Wilmington, DE, EUA) e também por meio de eletroforese em gel de agarose.

As amostras de todos os 56 tourinhos foram genotipadas utilizando o Z-Chip (Neogen, Lincoln, Nebraska, EUA) que foi especialmente desenvolvido pela sua subsidiária Deoxi (Araçatuba, SP, Brasil) para a genotipagem molecular de animais zebuínos, uma vez que os chips de DNA, desenvolvidos para taurinos, são pouco eficientes para as raças zebuínas.

Os valores genômicos para a produção de leite foram calculados utilizando os dados do Projeto “Seleção Genômica em Raças Bovinas Leiteiras no Brasil”, Código Embrapa 02.09.07.008.00.00, que vem sendo executado pela Embrapa desde 2011. Os resultados foram expressos em GEBV (Valor Genômico Estimado) e foram estimados com informações de todos os animais, com o fenótipo, pedigree e os genótipos em uma única etapa, por meio do procedimento conhecido por single-step GBLUP (ssGBLUP), usando inferência Bayesiana via amostragem de Gibbs, por meio do programa BLUPF90 (MISZTAL et al., 2002).

Uma amostra de 3.257 animais foi genotipada com chips de diferentes densidades (*Illumina BovineSNP50 BeadChip v2* (50K), *Illumina BovineHD BeadChip* (HD) e *Z-Chip*. Após a definição do *chip Illumina BovineHD BeadChip* como o padrão, os SNPs dos outros chips foram imputados, utilizando o *software Flmpute* (SARGOLZAEI et al., 2014) para o *chip* HD, sendo as análises iniciadas com um total de 735.236 SNPs. Posteriormente, os seguintes critérios foram utilizados para exclusão de SNPs: frequência alélica $\leq 0,01$, diferença máxima entre a frequência alélica observada e a esperada para o equilíbrio de *Hardy-Weinberg* de 0,15, GenCall score $\leq 0,70$, *call rate* $\leq 0,98$ e SNPs com correlação entre si $> 0,995$. Também foram excluídas amostras com eficiência de genotipagem (*call rate*) $\leq 0,92$. Desta forma, após o controle de qualidade, restaram 3.257 animais Gir genotipados e 450.078 SNPs em cromossomos autossômicos.

Os valores genômicos para produção de leite dos animais de cada produtor, participante do pré-teste genômico, foram plotados em gráficos de barra, utilizando o software Excel (Microsoft, Seattle, WA, EUA) e foram enviados a cada produtor.

Resultados e Discussão

Extração de DNA dos tourinhos: Foram extraídas amostras de DNA de 56 tourinhos da raça Gir Leiteiro animais, utilizando sangue periférico como material biológico coletado e enviado por 15 produtores. As amostras de DNA obtidas apresentaram concentração média de 452 ± 303 ng/uL, quantidade DNA média de 226 ± 151 ; qualidade DNA média 260/280 de $1,85 \pm$

0,02; qualidade DNA média 260/230 de $2,27 \pm 0,22$. Estes indicadores obtidos em relação às amostras de DNA indicam a excelência da metodologia de extração de DNA, uma vez que foram obtidas quantidades muito grandes de DNA de alta qualidade, suficientes e apropriadas para a realização de inúmeras análises moleculares e permitindo também armazenar o DNA no Banco de DNA de Bovinos de Leite da Embrapa Gado de Leite.

Resultados das genotipagens com o Z-Chip e análises genômicas: Problemas na integridade das amostras de DNA podem levar à falha de grande quantidade de SNPs, assim, tais amostras devem ser retiradas antes das análises. O *Call Rate* é um parâmetro importante para investigar a qualidade no DNA, indicando a eficiência da amostra. A média de *call rate* para as genotipagens usadas nesse estudo foi superior à 97%, indicando que a qualidade do DNA era excelente. Em relação às análises genômicas, a alta qualidade do DNA também foi fator decisivo para que o processo de imputação tivesse alta acurácia. A estratégia de genotipagem que o usa o HD SNP *chip* como o painel de referência e o *Z-chip* como painel de baixa densidade se mostrou bastante eficiente, com resultados de acurácia (eficiência da imputação) em torno de 98%. Essa alta eficiência na imputação, permitiu o uso de um número superior a 450.000 SNPs nas análises usando a metodologia *Single Step*, refletindo em ganhos nas confiabilidades associadas aos valores genômicos dos 56 tourinhos. Os resultados dos valores genômicos para os 56 tourinhos demonstraram que existe uma grande variabilidade entre os animais avaliados, sendo observada uma diferença de 419% entre o touro melhor classificado em relação ao touro pior classificado (Figura 1).

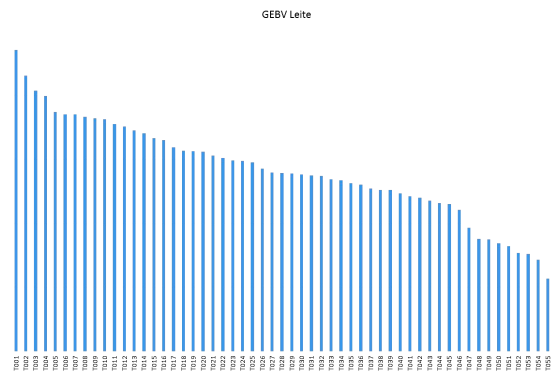


Figura 1. Classificação dos 56 tourinhos da raça Gir Leiteiro em relação ao valor genômico (VGBV) para produção de leite.

Resultado final entregue a cada produtor participante da avaliação genômica: Um total de 15 produtores participaram do processo do pré-teste genômico de touros da ABCGIL. O número de animais enviados por cada produtor variou de dois a seis tourinhos. Os valores genômicos, obtidos para cada um dos animais, permitiram ranquear os touros para cada proprietário, permitindo a escolha do animal com maior potencial genômico para produção de leite (Figura 2).

Proprietário: Fulano de Tal

Os resultados a seguir referem-se à comparação entre animais genotipados de um mesmo rebanho, por meio de seus valores genéticos para produção de leite, que foram estimados a partir de informações genealógicas, fenotípicas e genômicas. Os resultados não se prestam a qualquer tipo de comparação entre animais de diferentes rebanhos e não garantem que os animais melhores classificados, no gráfico abaixo, terão um desempenho superior caso participem do pré-teste e do teste de progênie do Gir Leiteiro. O objetivo da entrega desses resultados é que essa classificação auxilie os criadores a escolherem, dentre os animais disponíveis em seu rebanho, aqueles com melhor potencial genético para produção de leite, melhorando o processo de tomada de decisão quanto a qual (is) animal (is) poderá (ão) ser inscrito (s) no Teste de Progênie conduzido pela ABCGIL e pela Embrapa. É extremamente importante ressaltar que o resultado não é apropriado para ser usado como peça de promoção para a comercialização do próprio animal ou mesmo do seu sêmen.

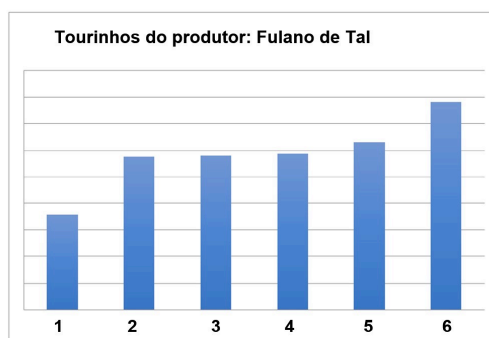


Figura 2. Exemplo do resultado final entregue a cada um dos 15 produtores participantes da 8ª Prova de Pré-seleção para o Teste de Progênie ABCGIL/EMBRAPA.

Conclusões

As amostras de DNA extraídas dos tourinhos apresentaram excelentes indicadores tanto em quantidade quanto em qualidade do DNA, garantindo a qualidade dos trabalhos posteriores. As genotipagens com marcadores SNP utilizando o *Z-Chip* da Neogen apresentaram excelente score de qualidade, com genótipos obtidos para quase a totalidade dos marcadores presentes no Chip. O ranqueamento dos tourinhos, em relação aos valores genômicos para produção de leite, foi eficiente para discriminar os animais enviados por cada produtor, permitindo a escolha dos candidatos com maior potencial para participação no teste de progênie da ABCGIL.

Agradecimentos

Apoio financeiro: Embrapa, Fapemig, MCTI/INCT- Ciência Animal e Fapemig CVZ PPM 00606/16

Referências

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D.W. Molecular Cloning: A laboratory Manual. 3ªed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SARGOLZAEI, M., J. P. CHESNAIS AND F. S. SCHENKEL. 2014. A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. BMC Genomics, 15:478 (DOI:10.1186/1471-2164-15-478).

MISZTAL, I., TSURUTA, S., STRABEL, T., AUVRAY, B., DRUET, T., AND LEE, D. H. (2002). BLUPF90 and related programs (BGF90). In Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August, 2002. Session 28. (pp. 1-2). Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

Utilização de marcadores moleculares para identificação de híbridos e associação com apomixia em *Brachiaria*¹

Selma dos Santos Kaeser², Fernando Rodrigues de Oliveira³, Daniele Ribeiro de Lima Reis⁴, Fausto de Souza Sobrinho⁵ e Ana Luisa Sousa Azevedo^{5,6}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

²Graduanda em Ciências Biológicas – CES-JF Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Bolsista do CNPq. E-mail: selminhasantos2009@hotmail.com

³Bolsista de Apoio Técnico Fapemig. E-mail: mrollyver@gmail.com

⁴Analista, Embrapa Gado de Leite. E-mail: daniele.reis@embrapa.br

⁵Pesquisador, Embrapa Gado de Leite. E-mail: fausto.souza@embrapa.br; ana.azevedo@embrapa.br

⁶Orientador

Resumo: O gênero *Brachiaria* contém diversas espécies forrageiras amplamente utilizadas na pecuária de leite e carne em regiões de clima tropical. A grande maioria das pastagens cultivadas no Brasil pertence ao gênero *Brachiaria* o que reforça a enorme importância econômica do gênero. A Embrapa coordena programas de melhoramento em *Brachiaria* visando a produção de materiais mais produtivos e resistente à doenças e pragas. Os programas de melhoramento utilizam diferentes estratégias para a seleção de materiais superiores e uma das estratégias consiste na formação de híbridos interespecíficos. A confirmação da hibridação é um dos problemas existentes e ferramentas moleculares podem ser utilizadas para auxiliar nesse processo de identificação. Outro fator que também pode ser auxiliado pelas ferramentas moleculares é a identificação de materiais apomíticos, característica muito importante e que pode direcionar estratégias completamente diferentes dentro de um programa de melhoramento. Este trabalho buscou identificar híbridos entre *B. brizantha* e *B. ruziziensis* em diferentes cruzamentos através da utilização de marcadores moleculares e validar marcas específicas associadas à apomixia. Foram identificados 16 híbridos em duas populações de *Brachiaria* pertencentes ao programa de melhoramento. Dois marcadores associados à apomixia apresentaram amplificação conforme o esperado e foram utilizados para identificação de cinco híbridos possivelmente apomíticos. Os marcadores moleculares mostraram-se eficientes para identificação de híbridos, e poderão auxiliar a identificação precoce de materiais apomíticos, dessa forma poderão ser utilizados amplamente na seleção dentro dos programas de melhoramento.

Palavras-chave: Apomixia, hibridação, marcadores microssatélites, melhoramento

Use of molecular markers for hybrids identification and association with apomixia in *Brachiaria*

Abstract: The genus *Brachiaria* contains several forage species widely used in dairy and beef cattle raising in tropical regions. The vast majority of Brazilian pasture crops belong to the *Brachiaria* genus, which reinforces the enormous economic importance of the genus. The breeding programs use different strategies for selection of superior materials and one of these is the interspecific hybridization. Verification of the hybridization is a problem in breeding programs and molecular tools can be used for help this issue. Another factor that can also be aided by molecular tools is the identification of apomictic materials, a very important characteristic that can guide completely different strategies within a breeding program. This work aimed to identify hybrids between *B. brizantha* and *B. ruziziensis* in different crosses through the use of molecular markers and associate specific marks with apomixia. Sixteen hybrids were identified in two *Brachiaria* populations belonging to the breeding program. Two markers associated with apomixia showed amplification as expected and were used to identify five possibly apomictic hybrids. Molecular markers have proved to be efficient for hybrids identification, and may help the early

identification of apomictic materials, so they can be used extensively in selection within breeding programs.

Keywords: Apomixis, breeding program, hybridization, microsatellite markers

Introdução

A introdução da braquiária provocou uma verdadeira revolução na produtividade das pastagens e na pecuária no Brasil (BARCELOS et al., 2008). Atualmente o Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo, é o maior exportador de carne bovina e um dos maiores produtores de leite. Porém a base genética dos pastos plantados é extremamente estreita, colocando os pastos brasileiros em uma situação de grande vulnerabilidade genética.

A área plantada com braquiária está dividida entre quatro principais espécies, todas elas de origem africana: *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. ruziziensis*. As espécies *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. humidicola* são espécies tetraploides com reprodução predominantemente apomítica (VALLE E SAVIDAN, 1996). Já *B. ruziziensis* é diploide e se reproduz de forma sexual. Os métodos convencionais de melhoramento genético não são aplicados de maneira intensiva em poliploides, pois há dificuldade de desenvolver cruzamentos que promovam a recombinação gênica e a produção de progênie estáveis. A formação de híbridos interespecíficos e a geração de populações segregantes para a característica reprodutiva (sexual x apomítica) é uma estratégia utilizada para geração de novos materiais.

Em *Brachiaria* muitas ferramentas moleculares já são utilizadas para auxiliar os programas de melhoramento (SILVA et al. 2013, AZEVEDO et al. 2011, ZORATTO et al. 2010, Jungmann et al. 2010, AMBIEL et al. 2010) e a continuidade desses trabalhos favorecerá diretamente a seleção de genótipos superiores.

Diante das necessidades encontradas dentro do programa de melhoramento, o objetivo deste trabalho foi identificar a formação de híbridos em cruzamentos controlados e validar marcadores moleculares associados à apomixia em *Brachiaria*, através da utilização de marcadores moleculares.

Material e Métodos

A extração do DNA assim como a genotipagem foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite. A extração do DNA foi realizada a partir de folhas novas coletadas no campo e foi utilizado o kit de extração Nucleon PhytoPure (GEHealthcare). Os marcadores moleculares foram marcados com uma fluorescência para posterior detecção no sequenciador automático de DNA MegaBACE 1000.

Marcadores microssatélites previamente identificados em *B. ruziziensis* (SILVA et al. 2013) foram selecionados de acordo com o polimorfismo e utilizados em diferentes amostras para a confirmação da formação de híbridos após a realização de cruzamentos controlados.

População 1: Foram obtidos 13 indivíduos provenientes de cruzamento entre *B. brizantha* (Piatã, Marandu e Xaraes) e *B. ruziziensis*. Sete marcadores microssatélites foram selecionados baseado no padrão de amplificação encontrado entre as cultivares de *B. brizantha*. As 13 progênie foram avaliadas para confirmar a hibridação entre as duas espécies de *Brachiaria* e para a identificação do parental masculino.

População 2: Foram obtidas 11 progênie a partir de cruzamento entre *B. ruziziensis* e a cultivar Ipyporã. Dez marcadores microssatélites foram utilizados para a confirmação da hibridação. Os híbridos obtidos foram avaliados com marcadores associados à apomixia (Akiyama et al. 2011), visando identificar precocemente qual material herdou a característica presente no parental masculino (Ipyporã).

Resultados e Discussão

A população 1 foi obtida a partir de cruzamentos direcionados entre uma população de *Brachiaria ruziziensis* (progênie feminina) e cultivares de *Brachiaria brizantha* – Piatã, Marandu e Xaraes (progênie masculinas – doadoras de pólen). As sementes colhidas a partir desses cruzamentos foram plantadas e os indivíduos avaliados para confirmar a hibridação, visto que existe a possibilidade de cruzamento entre indivíduos de *B. ruziziensis* ou mesmo autofecundação. Para confirmar a formação dos híbridos e posteriormente a identificação do

parental masculino, as progênies obtidas foram genotipadas com sete marcadores do tipo microssatélites.

Foram identificados 28 alelos a partir da genotipagem de seis parentais de *B. ruziziensis* e das três cultivares de *B. brizantha*. Baseado no padrão de amplificação dos marcadores microssatélites, foi possível identificar entre as 13 progênies avaliadas que sete realmente eram híbridas. A identificação do parental masculino também foi possível em seis híbridos e somente para um indivíduo permaneceu uma dúvida entre as cultivares Marandu e Piatã. Para solucionar essa dúvida seria necessária a realização de novas genotipagens, porém a simples confirmação de hibridação já foi suficiente para a continuidade dos trabalhos.

A população 2 foi obtida a partir do cruzamento entre um indivíduo de *B. ruziziensis* tetraploide pertencente ao programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite e um indivíduo da cultivar híbrida Ipyorã. Foram obtidas 11 progênies, que posteriormente foram avaliadas para verificar se realmente era fruto do cruzamento desejado. A partir da genotipagem de toda a população com dez marcadores microssatélites foram obtidos 27 alelos e foram confirmadas nove plantas híbridas.

A cultivar Ipyorã é apomítica e o esperado na progênie obtida a partir do cruzamento da mesma com uma espécie sexual é a segregação 1:1 (OZIAS-AKINS and VAN DIJK 2007). Para verificar se os híbridos obtidos eram sexuais ou apomíticos, foram testados primers associados à apomixia já descritos na literatura (AKIYAMA et al. 2011). Dois *primers* testados apresentaram bandas do tamanho esperado associada à apomixia. Cinco híbridos foram identificados dessa forma como apomíticos, porém essa característica só será confirmada a partir da avaliação das sementes produzidas pelos mesmos. Os marcadores moleculares utilizados estão associados à apomixia em outras espécies ou outras populações, dessa forma é preciso certificar que não houve recombinação e que as marcas obtidas realmente estão associadas à apomixia na população utilizadas no presente trabalho.

Conclusões

Marcadores moleculares são eficientes para identificação de híbridos e confirmação de paternidade em cruzamentos de *Brachiaria*.

Marcadores moleculares associados à apomixia poderão auxiliar a identificação precoce de materiais apomíticos e poderão ser utilizados amplamente na seleção dentro dos programas de melhoramento.

Agradecimentos

Ao CNPq, Fapemig e Embrapa pelo apoio financeiro ao projeto.

Referências

AMBIEL, A.C.; NETO, N.B.M.; GUABERTO, L.M.; VANDERLEI, T.M. *Brachiaria* germplasm dissimilarity as shown by RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, p. 55-64, 2010.

AKIYAMA, Y.; GOEL, S.; CONMER, A. J.; HANNA, W.W.; YAMADA-AKIYAMA, H.; OZIAS-AKINS. P. Evolution of the apomixis transmitting chromosome in *Pennisetum*. **BMC Evol. Biol.**, v. 11, p. 289, 2011.

AZEVEDO, A.L.S.; COSTA, P.P.; MACHADO, M.A.; DE PAULA, C.M.P.; SOBRINHO, FS. High degree of genetic diversity among genotypes of the forage grass *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) detected with ISSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 3530-3538, 2011.

BARCELLOS, A. O.; RAMOS, A. K. B.; VILELA, L.; BUENO, G.; JUNIOR, M. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n. spe., p.51-67, 2008.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen. DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 1998. 220 p.

JUNGMANN, L.; VIGNA, B.B.Z.; BOLDRINI, K.R.; SOUSA, A. C. B.; DO VALLE, C.B.; RESENDE, R.M.S.; PAGLIARINI, M.S.; ZUCCHI, M.I.; DE SOUZA, A.P. Genetic diversity and population structure analysis of the tropical pasture grass *Brachiaria humidicola* based on microsatellites, cytogenetics, morphological traits, and geographical origin. **Genome**, v. 53, p. 698-709, 2010.

OZIAS-AKINS, P.; VAN DIJK, P. J. Mendelian genetics of apomixis in plants. **Annual Review of Genetics**, v. 41, p. 509–537, 2007.

SILVA, P.I.T.; MARTINS, A.M.; GOUVEA, E.G.; PESSOA, M.; FERREIRA, M.E. Development and validation of microsatellite markers for *Brachiaria ruziziensis* obtained by partial genome assembly of Illumina single-end reads. **BMC Genomics**, v. 14, 2013.

VALLE, C.B.; SAVIDAN, Y.H. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: Miles, J.W.; Maass, B.L.; Valle, C.B., eds. ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. CIAT/Embrapa, Brasília, DF, Brazil. p. 147-163, 1996.

ZORZATTO, C; CHIARI, L; BITENCOURT, G. D.; DO VALLE, C.B.; LEGUIZAMON, G.O.D.; SCHUSTER, I.; PAGLIARINI, M.S. Identification of a molecular marker linked to apomixis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae). **Plant Breeding**, v.129, p.734-736, 2010.

Validação do *software e-Score* de análise de escore corporal¹

João Paulo Coutinho de Matos², Mayra Cardoso³, Wagner Arbex⁴, Kátia Lage dos Santos⁴, Maria de Fátima Ávila Pires⁵, Bruno Campos de Carvalho^{5,6}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil: Parte do projeto *Sistema de monitoramento e inteligência para manejo de rebanhos leiteiros e automação em sistemas de produção de leite*, liderado por Bruno Campos de Carvalho

²Graduando em Ciências Biológicas – Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora – CES/JF. Bolsista PIBIC CNPq. E-mail: jp.coutm@gmail.com

³Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora/MG

⁴Analista, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora/MG

⁵Pesquisador, Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora/MG

⁶Orientador – E-mail: bruno.carvalho@embrapa.br

Resumo: O *e-Score* é um software-protótipo que avalia o escore de condição corporal em vacas leiteiras por meio da leitura e interpretação de fotografias. O objetivo desse trabalho foi testar diferentes imagens de consulta na calibração do software, comparando os resultados com as avaliações visuais realizadas por profissionais treinados. Foram utilizadas 116 vacas Holandesas, avaliadas quanto ao ECC por um profissional treinado. Três sessões de fotos foram realizadas das posições lombar (vista de cima) e da garupa (vista traseira). Os testes com o software foram realizados com três conjuntos de imagens de consulta: a curva padrão do software, com vacas brancas e com vacas pretas. Os resultados da avaliação por profissional e os retornados pela avaliação do *e-Score*, juntamente com a média entre as análises, além dos valores obtidos por Cardoso et al. (2016) foram tabulados. Os dados obtidos foram submetidos à análise de dispersão de frequência, utilizando-se o teste de qui-quadrado. O índice de acerto foi de 49%, 59%, 47% e 59% para as avaliações de Cardoso et al. (2016), da curva padrão, vacas brancas e vacas escuras, respectivamente, com diferença significativa entre eles. Quanto aos ângulos das fotografias, não houve diferença significativa entre as vistas acima e traseira (38% e 35% de acerto, respectivamente), mas houve diferença significativa entre elas e a média entre as duas (54%). O aplicativo *e-Score* apresentou evolução nas análises se comparado aos resultados de Cardoso et al. (2016) devido às correções dos erros encontrados posteriormente. A utilização das médias entre os escores de vista traseira e vista acima se mostrou mais eficaz do que as vistas analisadas separadamente.

Palavras-chave: CBIR, reprodução animal, vacas leiteiras

Validation of *e-Score* software for body condition score analysis

Abstract: *e-Score* is a prototype software that evaluates the body condition score in dairy cows through the reading and interpretation of photographs. The objective of this study was to test different query images in software calibration, comparing the results with the visual evaluations performed by trained professionals. A total of 116 Holstein cows were used, evaluated for BCS by a trained professional. Three photo sessions were performed from the lumbar positions (top view) and the croup (rear view). Software tests were performed with three sets of query images: the software standard curve, with white cows and with black cows. The results of the evaluation by professional and those returned by the software, along with the average between the analyzes, besides the values obtained by Cardoso et al. (2016) were tabulated. The obtained data were submitted to frequency dispersion analysis, using the chi-square test. The success rate was 49%, 59%, 47% and 59% for the evaluations of Cardoso et al. (2016), of the standard curve, white cows and dark cows, respectively, with significant difference between them. Regarding the angles of the photographs, there was no significant difference between the above and the posterior views (38% and 35% accuracy, respectively), but there was a significant difference between them and the mean between the two (54%). The *e-Score* application presented evolution in the analysis when compared to the results of Cardoso et al. (2016) due to

the corrections of the errors found later. The use of the means between the rear view and top view scores was shown to be more effective than the separately analyzed views.

Keywords: animal reproduction, CBIR, dairy cows

Introdução

O escore de condição corporal (ECC) é uma medida de avaliação visual baseada na observação e tato de pontos anatômicos decisivos, relacionados à reserva energética do animal. Para vacas leiteiras, essas reservas são de grande importância por estarem diretamente relacionadas com a produção de leite, controle metabólico e desempenho reprodutivo. (HOUGHTON et al., 1990). O ECC avalia proeminências e cobertura muscular e de gordura nas regiões torácica e lombar da coluna vertebral, o processo espinhoso e as tuberosidades sacral e isquiática, atribuindo, no geral, uma pontuação que vai de um a cinco, com especificação de 0,25 de acordo com os pontos indicados. Esse método, embora vantajoso, é altamente subjetivo devido à variação nas avaliações realizadas pelos observadores, indicando a necessidade de uma padronização (WILDMAN et al., 1982).

Nesse sentido, a aplicação de soluções baseadas na tecnologia da informação se torna uma alternativa viável para essa padronização. O *e-Score* é um software-protótipo em desenvolvimento pela Embrapa Gado de Leite que avalia ECC em animais por meio da leitura e interpretação de fotografias, aplicando a inteligência computacional numa avaliação matemática dessa variável. É baseado no sistema de *Content-Based Image Retrieval* (CBIR), que contrapõe imagens semelhantes a uma imagem-padrão de consulta, levando em consideração a aproximação dos recursos visuais desta imagem para as outras imagens no conjunto de dados, através da formação de vetores. No entanto, imagens tidas como similares para seres humanos podem ser percebidas como diferentes pelos vetores, e vice-versa (SANTOS et al. 2015).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi testar diferentes imagens de consulta na calibração do *software e-Score*, comparando os resultados com as avaliações visuais realizadas por profissionais treinados.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Campo Experimental José Henrique Bruschi (CEJHB), em Coronel Pacheco–MG. Foram utilizadas 116 vacas Holandesas, avaliadas quanto ao ECC por um profissional treinado, através da metodologia proposta por Wildman (1982), onde o escore varia de 1 a 5, com escalas intermediárias de 0,25 pontos, tendo como 1 vacas muito magras e 5 vacas muito gordas.

Três sessões de fotos foram realizadas nos meses de fevereiro, maio e junho de 2016. As vacas eram contidas em tronco de contenção e fotografias digitais eram tiradas das posições lombar (vista de cima) e da garupa (vista traseira), em posição inclinada afim de visualizar as nuances do ílio e ísquio. Paralelamente, anotou-se a cor predominante da pelagem de cada vaca avaliada: branca, preta e preta e branca.

As fotos foram submetidas à avaliação no software-protótipo do *e-Score*, que realiza o processamento digital de imagens através do sistema de CBIR (SANTOS et al., 2015). Como o protótipo apenas avalia escores inteiros (de 1 a 5), vacas com escores 2,75 e 3,25 foram consideradas como escore 3 e vacas com escores 3,75 e 4,25 foram consideradas como escore 4. Foram avaliados três conjuntos distintos de imagens de consulta: o primeiro conjunto com a curva padrão do software, o segundo com vacas predominantemente brancas e o terceiro com vacas predominantemente pretas. Os resultados foram comparados com a avaliação do profissional, e classificados de acordo com o grau de acerto, de 0 a 2, sendo 0 quando a diferença entre o escore pelo software e pelo avaliador foi maior que 0,5, 1 quando o escore pelo software foi exatamente igual ao escore pelo avaliador e 2 quando a 0 a diferença entre o escore pelo software e pelo avaliador foi menor que 0,5. Os resultados foram, ainda, comparados com os obtidos por Cardoso et al. (2016), realizadas com outras imagens de consulta pelo mesmo software. Ao todo, 482 fotografias foram utilizadas, sendo 241 de cada uma das posições do mesmo animal). Os resultados da avaliação por profissional e os resultados retornados pela avaliação do *e-Score* das duas posições foram tabulados em planilhas de Excel. Foi também realizada a média entre os valores obtidos pelo software para comparação.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de dispersão de frequência, utilizando-se o teste de qui-quadrado ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Em geral, o *e-Score* apresentou evolução no índice de acerto nas avaliações realizadas nesse trabalho, em comparação com as realizadas por Cardoso e colaboradores (2016). Enquanto o índice de acerto desses autores foi de 49,4%, o acerto das avaliações desse trabalho foi de 59,3%, 47,3% e 58,9% para as curvas padrão, curva com vacas brancas e curva com vacas escuras respectivamente (Tabela 1). Essa melhora se deve ao fato de que, durante a utilização do software, vários erros de funcionamento foram encontrados e corrigidos. A diferença entre as análises foi significativa no teste do qui-quadrado ($P > 0,05$). Entre os tratamentos, apenas as comparações entre os resultados de Cardoso et al. (2016) e a curva com vacas branca e entre a curva padrão do software e a curva com vacas escuras não foram significativas ($P < 0,05$, Tabela 1).

A utilização de vacas brancas como curva de análise não se mostrou eficaz, obtendo a menor porcentagem de acerto entre todas as análises (Tabela 1). O fato de que a maioria das vacas analisadas eram predominantemente escuras pode ser responsável por esse desempenho inferior.

Tabela 1. Porcentagem de acertos do software *e-Score* com a diferentes curvas-padrão testadas, comparadas com os resultados obtidos por Cardoso et al. (2016). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas no teste do qui-quadrado ($P > 0,05$)

Acertos por observação			
Cardoso et al. (2016)	Curva Padrão	Branças	Escuras
49,4% ^a	59,3% ^b	47,3% ^a	58,9% ^b

A Tabela 2 apresenta o índice de acerto entre as vistas traseira e acima e da média entre as duas observações. Embora a diferença entre as três variáveis seja significativa ($P > 0,05$), observamos que os índices de acerto para as visões traseira e acima foram menores. No entanto, o índice de acerto para as médias foi muito superior ($P > 0,01$) quando comparadas tanto com a vista acima quanto com a vista traseira, o que demonstra que ambas as avaliações devem ser levadas em conta para formulação do escore final pelo *software*.

Tabela 2. Porcentagem de acertos do software *e-Score* em relação às vistas traseira e acima, bem como da média entre elas. Letras diferentes correspondem a diferenças significativas no teste do qui-quadrado ($P > 0,05$)

Acertos por comparação com ângulos da fotografia		
Vista acima	Vista traseira	Média entre as duas vistas
37,9% ^a	34,6% ^a	53,9% ^b

O sistema CBIR transforma a imagem em um vetor, que é a representação numérica que sumariza as características presentes nela, processada automaticamente através de algoritmos. Então, a imagem processada é combinada com as imagens da curva padrão, sendo calculada a proximidade entre elas (SANTOS et al. 2015). Fatores como o fundo em segundo plano, a luminosidade, a posição da pessoa que está registrando a imagem etc., podem alterar o vetor gerado e, conseqüentemente, a análise realizada pelo *software*. Assim, é necessária uma padronização na geração da imagem, a fim de minimizar essas influências externas. As imagens utilizadas nessa análise apresentavam uma grande variação nos ângulos, o que pode ser um fator que influenciou nos resultados aqui apresentados.

Conclusões

O aplicativo *e-Score* apresentou evolução nas análises se comparado aos resultados de Cardoso et al. (2016) devido às correções dos erros encontrados *a posteriori*. O aplicativo mostrou também melhor desempenho quando utilizado com vacas escuras como curva padrão, porém o fato de que a maioria das vacas analisadas apresentavam pelagem escura pode ter influenciado no resultado.

A utilização das médias entre os escores de vista traseira e vista acima se mostrou mais eficaz do que as vistas analisadas em separado, indicando que o *software* pode ter desempenho melhor ao levar em conta ambas as vistas, ao invés de apenas uma por vez. A padronização das fotos realizadas para a análise (com o uso de guias para realização da fotografia, por exemplo) e a utilização de número igual de vacas escuras e claras são fatores que devem ser levados em conta em estudos futuros.

Referências

CARDOSO, M. et al.. Avaliação de fatores que interferem na avaliação computadorizada do escore da condição corporal. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18., 2016, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa, 2016. CD.

HOUGHTON, P. L. et al. Prediction of Postpartum Beef Cow Body Composition Using Weight to Height Ratio and Visual Body Condition Score. **Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 68, n. 5, p.1428-1437, 1990.

SANTOS, Lucio F.d. et al. Combining Diversity Queries and Visual Mining to Improve Content-Based Image Retrieval Systems: The DiVI Method. **2015 IEEE International Symposium On Multimedia (ISM)**, [s.l.], p.357-362, dez. 2015.

WILDMAN, E.e. et al. A Dairy Cow Body Condition Scoring System and Its Relationship to Selected Production Characteristics. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 65, n. 3, p.495-501, mar. 1982. American Dairy Science Association.

XX WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE
Juiz de Fora, Minas Gerais, 27 a 28 de Julho de 2017

PÚBLICO PARTICIPANTE

Estagiários, Técnicos, Pesquisadores, Analistas e Convidados

COORDENADORES

*Leônidas Paixão Passos
Embrapa Gado de Leite*

*Marcello Augusto G. Souza
Embrapa Gado de Leite*

*Marcelo Dias Muller
Embrapa Gado de Leite*

*Pedro Braga Arcuri
Embrapa Gado de Leite*

*Alessandro de Sá Guimarães
Embrapa Gado de Leite*

*Maria de Fátima A. Pires
Embrapa Gado de Leite*

*Marco Antônio Machado
Embrapa Gado de Leite*

*Glauco Rodrigues Carvalho
Embrapa Gado de Leite*

OBJETIVO

Apresentar trabalhos desenvolvidos pelos bolsistas de Iniciação Científica e possibilitar a discussão dos resultados obtidos com os demais estagiários, pesquisadores, analistas e convidados presentes

PROGRAMA

SEÇÃO I – 27/07/2017		
08:30 – 08:35	Abertura – Dr. Pedro Braga Arcuri	
08:35 – 08:45	Utilização de marcadores moleculares para identificação de híbridos e associação com apomixia em <i>Brachiaria</i>	Por Selma dos Santos Kaeser, sob orientação do Dr ^a Ana Luisa Azevedo
08:45 – 08:50	Discussão	
08:50 – 09:00	Perfil de secreção de hormônio luteinizante em novilhas pré-púberes da raça gir, submetidas a protocolo de indução de ovulação	Por Paola Maria da Silva Rosa, sob orientação da Dr ^a Clara Slade Oliveira
09:00 – 09:05	Discussão	
09:05 – 09:15	Características morfológicas e estruturais de cultivares de <i>Panicum maximum</i> , submetidos ao pastejo de vacas leiteiras	Por Mateus José Inácio de Abreu, sob orientação do Dr. Domingos Sávio Campos Paciuolo
09:15 – 09:20	Discussão	
09:20 – 09:30	Evolução fenotípica e genética no núcleo MOET de seleção da raça Guzerá	Por Miriã Ribeiro Saidler, sob orientação da Dr ^a Maria Gabriela C. D. Peixoto
09:30 – 09:35	Discussão	
09:35 – 09:45	Identificação de portadores de alelos recessivos para três doenças hereditárias: CVM, BLAD e DUMPS em touros da Raça Girolando	Por Sane Neves Barbosa, sob orientação da Dr ^a Marta Fonseca Martins
09:45 – 09:50	Discussão	
09:50 – 10:00	Utilização de ferramentas genômicas na pré-seleção de touros para o Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro	Por Kevin Schefer dos Santos, sob orientação do Dr. Marco Antonio Machado
10:00 – 10:05	Discussão	
SEÇÃO II – 27/07/2017		
13:30 – 13:40	Tabelas de composição química e bromatológica de alimentos regionais para gado de leite no estado do Rio Grande do Sul	Por Kívia Real Chemp, sob orientação do Dr. Thierry Ribeiro Tomich
13:40 – 13:45	Discussão	
13:45 – 13:55	Triagem de acessos de gramínea do gênero <i>Paspalum</i> em casa de vegetação com vistas à avaliação da divergência nutricional das forragens	Por Kívia Real Chemp, sob orientação do Dr. Thierry Ribeiro Tomich
13:55 – 14:00	Discussão	
14:00 – 14:10	Partição energética em vacas Girolando sob diferentes níveis de alimentação no terço final da lactação	Por Ana Luisa Mendes dos Santos, sob orientação Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira
14:10 – 14:15	Discussão	

14:15 – 14:25	Tecnologias de informação e precisão utilizadas para melhorar o desempenho da rotina de ordenha	Por Samuel Aloísio Toledo Silva, sob orientação do Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira
14:25 – 14:30	Discussão	
14:30 – 14:40	Caracterização da variação fenotípica e identificação de regiões genômicas associadas à termorregulação em vacas da raça Girolando	Por Pedro Manoel de Oliveira Netto, sob orientação do Dr. Luiz Sérgio de Almeida Camargo
14:40 – 14:45	Discussão	
14:45 – 14:55	Precificação dos atributos do leite fluido no município de Juiz de Fora - MG: uma análise de preços hedônicos	Por Juliana Mota Monteiro da Silva, sob orientação do Dr. Glauco Rodrigues Carvalho
14:55 – 15:00	Discussão	
15:00 – 15:10	Caracterização fenotípica e genotípica da resistência à eritromicina em linhagens de <i>Streptococcus agalactiae</i> isoladas de amostras de leite bovino em Minas Gerais	Por Bianca de Oliveira Hosken, sob orientação do Dr. Márcio Roberto Silva
15:10 – 15:15	Discussão	
15:15-15:25	Perfil de ácidos graxos do leite e do queijo Minas artesanal, com diferentes tempos de maturação, produzido no município de Alagoa	Por Jéssica Cordeiro Queiroz de Souza, sob orientação do Dr. Marco Antonio Sundfeld da Gama
15:25-15:30	Discussão	
15:30-15:40	Validação do software e-Score de análise de escore corporal	Por João Paulo Coutinho de Matos, sob orientação do Dr. Bruno C. Carvalho
15:40-15:45	Discussão	
15:45-15:55	Caracterização de P-N-Acetilglicosamina extraído de <i>Staphylococcus aureus</i> por espectroscopia Raman	Por Danielle dos Santos Cinelli Pinto, sob orientação do Dr. Humberto de Mello Brandão
15:55-16:00	Discussão	
SEÇÃO III – 28/07/2017		
08:30 – 08:40	Tolerância de clones de <i>Brachiaria ruzizensis</i> ao sombreamento	Por Renata Sousa Alves da Silva, sob orientação do Dr. Fausto de Souza Sobrinho
08:40 – 08:45	Discussão	
08:45 – 08:55	Indicadores fisiológicos e absorção de Ca, Fe e Mg em plântulas de azevém anual tratadas com reguladores do crescimento	Por Lucas Prudêncio Eiterer, sob orientação do Dr. Leônidas Paixão Passos
08:55 – 09:00	Discussão	
09:00 – 09:10	Resistência para a <i>Mahanarva spectabilis</i> (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) em clones advindos de populações melhoradas de <i>Brachiaria ruzizensis</i>	Por Giani Batista da Silva, sob orientação do Dr. Alexander Machado Auad
09:10 – 09:15	Discussão	
09:15 – 09:25	Caracterização das injúrias ocasionadas por <i>Mahanarva spectabilis</i> (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) em <i>Brachiaria ruzizensis</i> (Germ & Evrard)	Por Bruno dos Santos Rodrigues, sob orientação do Dr. Alexander Machado Auad
09:25 – 09:30	Discussão	
09:30 – 09:40	Susceptibilidade a antimicrobianos de estirpes de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas de leite de vacas com mastite	Por Thais Cristina de Assis Oliveira, sob orientação da Dr ^a Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito
09:40 – 09:45	Discussão	
09:45 – 09:55	Análise comparativa do custo/benefício energético-nutricional de produtos lácteos para os consumidores mineiros	Por Guilherme William Marcelino, sob orientação do Dr. Cristiano Amancio V. Borges
09:55 – 10:00	Discussão	
10:00 – 10:10	Desenvolvimento de metodologia de cultivo de hepatócitos bovinos <i>in vitro</i> para estudos moleculares e bioquímicos	Por Giuliana Xavier de Medeiros, sob orientação da Dr ^a Wanessa Araújo Carvalho
10:10 – 10:15	Discussão	
10:15 – 10:20	Encerramento – Dr. Pedro Braga Arcuri	

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Denis Teixeira da Rocha – Embrapa Gado de Leite
Glauçyana Gouvêa dos Santos – Embrapa Gado de Leite
Márcia Cristina de Azevedo Prata – Embrapa Gado de Leite
Mirton José de Frota Morenz – Embrapa Gado de Leite

XX WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE

27 a 28 de Julho de 2017

EMBRAPA GADO DE LEITE

Chefe–Geral
Paulo do Carmo Martins

Chefe–adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento
Pedro Braga Arcuri

Chefe–adjunto de Comunicação e Negócios
William Fernandes Bernardo

Chefe–adjunto de Administração
José Roberto Ferreira

LOCAL
Auditório Prof. José Antonio Dias Costa Aroeira
Sede da Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora / MG

Promoção



Apoio

