

**INFLUÊNCIA DA SOMATOTROPINA
BOVINA RECOMBINANTE (rbST) SOBRE O
GANHO DE PESO E DESENVOLVIMENTO
TESTICULAR DE NOVILHOS DE CORTE**

GUILHERME DE SOUZA GOMES

2001

52665

MFN-37332

GUILHERME DE SOUZA GOMES

**INFLUÊNCIA DA SOMATOTROPINA BOVINA
RECOMBINANTE (rbST) SOBRE O GANHO DE PESO
E DESENVOLVIMENTO TESTICULAR DE
NOVILHOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração
em Produção Animal - Ruminantes, para a
obtenção do título de "Mestre".

A Orientador

Prof. Ivo Francisco Andreato

LAVRAS

MP1406

2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Gomes, Guilherme de Souza

Influência da somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre o ganho de peso e desenvolvimento muscular de novilhos de corte / Guilherme de Souza Gomes. -- Lavras : UFLA, 2001.

52 p. : il.

Orientador: Ivo Francisco Andrade.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Gado de corte. 2. Novilho. 3. Somatotropina bovina. 4. Ganho de peso. 5. Desenvolvimento produtivo. 6. Reprodução. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.213

GUILHERME DE SOUZA GOMES

**INFLUÊNCIA DA SOMATOTROPINA BOVINA
RECOMBINANTE (RBST) SOBRE O GANHO DE PESO
E DESENVOLVIMENTO TESTICULAR DE NOVILHOS
DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração
em Produção Animal - Ruminantes, para a
obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 21 de setembro de 2001

Prof. José Camisão de Souza Prof. Carlos A. P. de Rezende

Prof. Luiz David Solis Murgas Prof. Joel Augusto Muniz


Prof. Ivo Francisco Andrade

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2001

À minha avó, "Vó Mila", pelo seu imenso amor.

**Aos meus irmãos Mary, Ana, Max e Renato, pelas alegrias em todos
esses anos de muita felicidade.**

À Cristiany, pelo amor e carinho.

OFEREÇO

**Aos meus pais, Waldenor e Gildéia, mercedores de todo meu
respeito e amor**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta etapa cumprida.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Professor Ivo Francisco Andrade, pelos ensinamentos, orientação e confiança.

Aos Professores José Camisão de Souza, Joel Augusto Muniz, Luiz David Solis Murgas, Carlos Alberto Pereira de Rezende e João Bosco Barreto Filho, pelo incentivo, amizade e valiosas sugestões.

Aos funcionários do curso de Pós-Graduação em Zootecnia, pela ajuda e amizade.

Ao Dr. Giovani Miari, Dona Aparecida e Aurélio, pela colaboração para a realização deste experimento.

Ao José Hilton, Sérgio, Nivaldo, Reginaldo e demais funcionários da Fazenda Potreiros, pela ajuda e amizade.

À SAAG, todos seus funcionários pela colaboração no decorrer deste experimento.

À Juliana e a Coopers Brasil Ltda., pela infinita ajuda para o desenvolvimento deste experimento.

Aos Professores Antônio Carlos e Fábio Maurício do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Minas Gerais, pelos valiosos ensinamentos.

À Professora Cristina Delarete, Wesley e demais professores e funcionários do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, que contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao meu primo e amigo, Marcelo, pelo auxílio e colaboração essenciais para a conclusão deste trabalho.

Ao Fernando, Gisele, Vladimir, Coimbra e Fabiana, pela amizade e prestatividade.

Aos amigos Paulinho, Magrelo, Vitor, João, Salsicha, República Capô de Fusca, pelos momentos de descontração e alegria.

Aos companheiros de Mestrado Sílvio, Luiz, Érica, Fernanda, Ana, Gabriela e Edgar, pelo convívio agradável e apoio.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
1) INTRODUÇÃO	1
2) REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1) Desenvolvimento Corporal e Reprodutivo.....	3
2.2) Suplementação Protéica.....	5
2.3) Hormônio do Crescimento (GH).....	7
2.3.1) Características do GH.....	7
2.3.2) Controle da Secreção do GH.....	8
2.3.3) Mecanismo de Ação.....	9
2.3.4) Receptores de GH e IGF-I.....	11
2.3.5) Suplementação com rbST.....	13
A) Efeitos no perfil hormonal e nos metabólitos sanguíneos.....	13
B) Efeitos no desempenho produtivo.....	13
C) Efeitos sobre o trato reprodutivo.....	14
3) MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1) Localização do Experimento.....	17
3.2) Animais e Condições de Manejo.....	17
3.3) Tratamentos e Pesagem dos Animais.....	18
3.4) Ganho de Peso.....	19
3.5) Biometria Testicular.....	19
3.6) Avaliação Física e Morfológica do Sêmen.....	20
3.7) Análise Histométrica.....	21
4) RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1) Desempenho.....	24
4.2) Aparelho Reprodutor.....	28

4.2.1) Biometria Testicular.....	28
4.2.2) Análise Espermática.....	30
4.2.3) Análise Histométrica.....	31
5) CONCLUSÕES	44
6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

LISTA DE ABREVIATURAS

AE = Altura do Epitélio

ARR = Espermátide Arredondada

ARR/S = Relação Entre o Número de Espermátides Arredondadas e o Número de Células de Sertoli

ARR/SPG = Relação Entre o Número de Espermátides Arredondadas e o Número de Espermatogônias

Ca = Cálcio

CE = Circunferência Escrotal

CT = Comprimento Testicular

DH = Dosagem Hormonal

DT = Diâmetro Tubular

EA = Eficiência Alimentar

EC = Época de Castração

FDA = Fibra em Detergente Ácido

FDN = Fibra em Detergente Neutro

GH = Hormônio do Crescimento

GHBP = "Growth Hormone Binding Protein"

GHR = Receptor de GH

GHRH = Hormônio Liberador do Hormônio do Crescimento

GP = Ganho de Peso

GPMD = Ganho de Peso Médio Diário

IGF = "Insulin-like Growth Factor"

IGF-I = "Insulin-like Growth Factor I"

IGF-II = "Insulin-like Growth Factor II"

LT = Largura Testicular
MP% = Porcentagem de Motilidade Progressiva
MS = Matéria Seca
P = Fósforo
PB = Proteína Bruta
PE = Perímetro Escrotal
PF = Peso Final
PIT-I = Proteína de Ativação do Gene do GH
PL = Espermatoócito na Fase de Pré-leptóteno
PL/S = Relação Entre o Número de Pré-leptóteno e o Número de Células de Sertoli
PQ = Espermatoócito na Fase de Paquíteno
PQ/S = Relação Entre o Número de Paquíteno e o Número de Células de Sertoli
rbST = Somatotropina Bovina Recombinante
SIRF = Somatostatina
SNC = Sistema Nervoso Central
SPG = Espermatogônia
SPG/S = Relação Entre o Número de Espermatogônia e o Número de Células de Sertoli
SPTZ = Espermatozóide
SPTZD = Espermatozóides Defeituosos
SPTZN = Espermatozóides Normais

RESUMO

GOMES, Guilherme de Souza. Influência da somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre o ganho de peso e desenvolvimento testicular de novilhos de corte. Lavras: UFLA, 2001. 52p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia)¹.

Esta pesquisa teve como objetivo testar o efeito da aplicação de rbST sobre o ganho de peso e desenvolvimento testicular de novilhos de corte, num sistema de suplementação à pasto. Foram utilizados 54 novilhos meio sangue Nelore x Simental, divididos em 3 grupos: 0 (n=18), 250 (n=18) e 500mg de rbST (n=18). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados e foram analisadas as seguintes variáveis: peso final, ganho de peso, ganho de peso diário, circunferência escrotal, comprimento, largura e espessura testiculares, populações celulares dos túbulos seminíferos e diâmetro dos túbulos e características físicas e morfológicas do sêmen. Observou-se efeito significativo dos tratamentos sobre o ganho de peso total ($P < 0,0055$) e sobre o ganho de peso diário ($P < 0,0054$). Não foi observado efeito significativo sobre o peso corporal final, comprimento, largura e espessura testiculares. Houve efeito significativo ($P < 0,05$) sobre a circunferência escrotal, porém, as características físicas e morfológicas do sêmen não foram afetadas. Não foi observado efeito significativo das dosagens hormonais sobre as relações entre o número de células germinativas e o número de células de Sertoli e no diâmetro tubular, entretanto, encontrou-se diferença significativa ($P < 0,0114$) para a altura do epitélio, no contraste entre o grupo controle e o grupo tratado, o qual apresentou resultados superiores. Concluiu-se que a aplicação do rbST exerceu efeito positivo sobre o ganho de peso e circunferência escrotal de modo dose-dependente e que o mesmo não ocorreu para as características

¹Comitê Orientador: Ivo Francisco Andrade – UFLA (Orientador); José Camisão de Souza – UFLA; Carlos Alberto Pereira Rezende – UFLA; João Bosco Barreto Filho – UFLA.

seminais estudadas. Notou-se, na análise histométrica, que o rbST tem influência sobre as células germinativas e que a altura do epitélio aumentou no grupo tratado com 250mg de rbST.

ABSTRACT

GOMES, Guilherme de Souza. Influence of recombinant bovine somatotropin (rbST) on weight gain and testicular development of beef calves. Lavras: UFLA, 2001. 52p. (Dissertation – Master in Animal Science)¹.

The objective of this research work was to test the effect of the application of rbST on the weight gain and testicular development of beef calves in a system of pasture supplementation. 54 Nelore x Simmental half-bred calves divided into three groups : 0 (n=18) , 250 (n=18) and 500 mg of rbST (n= 18) were utilized. The experimental design utilized was that of randomized blocks and the following variables were analyzed: final weight, weight gain, daily weight gain, scrotal circumference, testicular length, width and thickness, cell populations of the seminiferous tubules and diameter of the tubules and physical and morphological characteristics of the semen. A significant effect of the treatments on total weight gain ($P<0.0055$) and on daily weight gain ($P<0.0054$) was found. No significant effect on final body weight, testicular length , width and thickness was observed. There were significant effects ($P<0.05$) on scrotal circumference, but , the physical and morphological characteristics of the semen were not affected. No significant effect of the hormonal dosages on the ratios between the number of germinative cells and the number of Sertoli cells and on the tubular diameter, however, a significant difference ($P<0.011$) was found for epithelium height, in the contrast between the control group and the treated group with the latter presenting superior results. It follows that the application of rbST exerted a positive effect on weight gain and scrotal circumference in a dose-dependant manner and that the same did not occur for the seminal

¹Guidance Committee: Ivo Francisco Andrade – UFLA (Adviser); José Camisão de Souza – UFLA; Carlos Alberto Pereira Rezende – UFLA; João Bosco Barreto Filho - UFLA

characteristics investigated. It was found in the histometrical analysis that rbST has influence on germinative cells and that epithelium height increased in the group treated with 250 mg of rbST.

1) INTRODUÇÃO

No Brasil Central ocorre queda acentuada na disponibilidade de forragem no período de seca. Além da menor oferta de alimento na pastagem, o animal dispõe de forrageira pobre em proteína, com maior teor de fibra bruta, altamente lignificada. Como consequência desse fato, os animais consomem menos matéria seca do que em épocas mais favoráveis e o que ingerem é de qualidade insatisfatória, resultando invariavelmente em perda de peso, devido ao déficit energético, protéico, mineral e vitamínico. Desse modo, em sistemas de produção de gado de corte, baseados exclusivamente em pastagens, tende a existir períodos de bom estado nutricional e ganho de peso, durante a estação chuvosa e períodos de má nutrição e perda de peso, durante a estação seca do ano. Neste contexto, a suplementação a pasto tem se mostrado uma alternativa economicamente viável para melhorar o desempenho do rebanho.

A taxa de crescimento dos bovinos de corte sofre a influência de inúmeros fatores, tais como o tamanho corporal na maturidade, composição corporal, utilização dos nutrientes para a formação dos diversos tecidos, além dos fatores fisiológicos intrínsecos e de um grande número de técnicas e produtos utilizados para melhorar o desempenho produtivo (Schmidt-Hebbel, 1997). Assim sendo, reveste-se de fundamental importância para a pecuária de corte, o conhecimento dos eventos biológicos envolvidos no processo de crescimento, bem como a avaliação da eficácia e dos mecanismos de ação de substâncias utilizadas como promotores de crescimento.

A partir da década de 70 houve grande interesse em se manipular a estrutura somatotrópica para aumentar a produtividade em ruminantes e, com isso, no início da década de 80, através da técnica do DNA recombinante, a somatotropina bovina foi obtida em laboratório a partir de culturas de

Escherichia coli. Assim, este hormônio pode agora ser produzido por biotecnologia, tornando viável sua utilização comercial.

Embora haja variação considerável entre indivíduos de um mesmo rebanho, os animais geralmente apresentam resposta positiva ao tratamento com hormônio de crescimento. Esta grande variação se deve a uma série de fatores tais como: dose aplicada, modo de administração e qualidade da dieta, dentre outros. Vale ressaltar que rebanhos tratados com hormônio de crescimento devem possuir bom manejo nutricional e sanitário para obtenção de resultados satisfatórios. O objetivo deste trabalho, portanto, foi avaliar o efeito da administração da somatotropina bovina sobre o ganho de peso e desenvolvimento reprodutivo de novilhos meio sangue Nelore x Simental tratados com hormônio de crescimento bovino recombinante (rbST), num sistema de produção com suplementação a pasto.

2) REVISÃO DE LITERATURA

2.1) Desenvolvimento corporal e reprodutivo

Lunstra *et al.* (1978) citam que as medições corporais que determinam o crescimento corporal ascendente, demonstram correlações altamente significativas com o tamanho dos testículos e o comprimento corporal e perímetro torácico. O peso corporal em touros jovens apresenta correlação linear com a idade (Fields *et al.* 1982) e correlações positivas entre estas duas características foram relatadas com amplitude de 0,72 a 0,98 dependendo das condições dos experimentos (Pimentel, 1984; Vieira *et al.*, 1985).

Pimentel (1984) trabalhou com trinta bovinos mestiços, machos, que foram pesados e tiveram suas dimensões testiculares verificadas a cada 15 dias, dos 6 aos 16 meses de idade. Houve alta correlação entre o peso e o desenvolvimento testicular, estimado através do perímetro escrotal ($r = 0,87$).

Trocóniz (1991) utilizou 159 machos da raça Guzerá puros de origem e 60 machos Nelore puros de origem, mantidos num sistema de suplementação a pasto, durante o período seco, para examinar o desenvolvimento testicular, alterações do peso corporal e características do sêmen. As medições de perímetro escrotal (PE) e colheitas de sêmen (com eletroejaculador) foram realizadas a cada 28 dias. A idade e o peso corporal afetaram o PE ($P < 0,01$) em ambas as raças. O PE aumentou linearmente ($P < 0,01$) com a idade e com o peso corporal. As correlações entre o PE e os exames de sêmen foram positivas ($P < 0,01$) variando de 0,49 a 0,73 nas duas raças.

Abdel-Raouf (1960), ao estudar a diferenciação do epitélio seminífero e o estabelecimento da espermatogênese em bovinos, encontrou, nos primeiros meses de desenvolvimento, cordões testiculares sólidos, constituídos apenas de gonócitos primordiais e células indiferenciadas de suporte. Seguindo a evolução histológica, apareceram espermatogônias, que proliferaram, e diminuiu o

número de gonócitos. A fase pré-púbere caracterizou-se pela formação de lume e aparecimento dos primeiros espermatócitos primários, espermatídes e poucos espermatozóides. A fase puberal caracterizou-se pelo desaparecimento completo das células indiferenciadas de suporte, que se transformaram em células de Sertoli, cujo número atingiu os limites adultos.

É importante registrar que o estabelecimento da atividade espermatogênica está mais intimamente relacionado com o desenvolvimento geral do indivíduo (peso corporal) do que com a idade (Melo, 1991)

Considera-se geralmente o processo espermatogênico como sendo dividido em três fases distintas: (a) fase proliferativa ou espermatogonial, na qual as espermatogônias proliferam e dão origem aos espermatócitos primários e, ao mesmo tempo, renovam a população espermatogonial necessária para a continuação do processo; (b) fase meiótica, a qual envolve divisões reducionais dos espermatócitos, resultando na formação de células haplóides, as espermatídes; (c) fase de diferenciação ou fase espermiogênica, na qual as espermatídes, através de uma complexa série de transformações citológicas, convertem-se em células altamente especializadas, os espermatozóides (Russell *et al.* 1990).

A expressão "cinética da espermatogênese" designa o conjunto de todos os processos citológicos e histológicos que ocorrem dentro dos túbulos seminíferos. Os eventos citológicos incluem as etapas de divisão, diferenciação e metamorfose das células germinativas em si, enquanto os eventos histológicos relacionam-se primariamente com a evolução dos diferentes tipos celulares, em conjunto, no túbulo seminífero (Clermont & Moegentaler, 1955).

Estimativas da população de células germinativas em relação à população de células de Sertoli têm sido empregadas como índices para se avaliar a eficiência da espermatogênese. Esta análise é viável por se saber que as células de Sertoli são menos susceptíveis a agentes deletérios que as células

germinativas. Hochereau – de Reviers *et al.* (1987) citados por Melo (1991), relacionando a espermatogênese, o número e a função das células de Sertoli em ovinos e bovinos, relataram que o estabelecimento da população destas células constitui fator primordial no controle da produção espermática. Perceberam, ainda, que, ao final do período pré-púbere, estas células progressivamente se diferenciam, tomando-se numericamente estáveis e que a população de células de Sertoli e de espermatogônias, mostraram-se altamente correlacionadas, indicando, de acordo com os autores, de que as células de Sertoli controlam as etapas iniciais da espermatogênese.

As razões numéricas entre espermatogônias e os demais tipos celulares por secção transversal de túbulo são utilizadas como meios para se estimar o coeficiente de eficiência da espermatogênese. Teoricamente, em cada divisão, dobra o número de células mas, na prática, isto dificilmente é encontrado (Castro *et al.* 1997).

2.2) Suplementação protéica

Durante a estação seca o rebanho bovino alimenta-se das sobras de forragens de verão, caracterizadas por elevado teor de fibra bruta e alta deficiência em proteína, energia, minerais e vitaminas (Paulino, 1999). A escassez de nitrogênio na forragem deprime a população de microrganismos celulolíticos do rúmen, prejudicando a digestibilidade da fração fibrosa da forragem. A redução da digestibilidade da fibra resulta em menor produção de ácidos graxos voláteis, importante fonte de energia para os ruminantes.

Normalmente, a ingestão de suplemento altera a quantidade de forragem consumida: a direção e a extensão da mudança é dependente da qualidade da forragem e do tipo de suplemento. Em geral, suplementos ricos em proteínas vão aumentar o consumo e a digestibilidade de forragem de baixa qualidade (Paulino, 1999).

Na maioria das vezes, os teores de proteína bruta não atingem o valor mínimo de 7% que, segundo Minson (1990), limitaria a atividade dos microrganismos do rúmen. Esse fato afeta a digestibilidade e o consumo da forragem, acarretando baixo desempenho animal. Nestas condições, o fornecimento de suplementos com relativamente alta concentração de proteína melhora a utilização da forragem e o desempenho animal, ao satisfazer as exigências mínimas de N dos microrganismos ruminais, possivelmente aminoácidos específicos e/ou cadeias de carbono.

Uma das maneiras pelas quais a suplementação protéica melhora o desempenho de bovinos consumindo forragem de baixa qualidade (< 7% PB) é através da estimulação do consumo voluntário. Esta alta de consumo é usualmente atribuída ao aumento na taxa de digestão e de passagem da forragem, favorecidas pela suplementação, acarretando maior consumo de energia pelo animal (Boin & Tedeschi, 1997).

Segundo Preston (1982), suplementação com proteína verdadeira ou nitrogênio não protéico tem sido recomendada com a idéia de melhorar o aproveitamento de ruminantes pelo aumento da utilização da forragem pastejada. A maioria dos estudos indicam que a suplementação protéica causa maior resposta ao estímulo de consumo com forragem de baixa qualidade (< 7% PB) do que com forragem de alta qualidade. Quando o nível de proteína bruta na forragem aumenta, a magnitude da resposta em consumo declina ou não é afetada. Entretanto, quando a proteína bruta da forragem aumenta, o incremento no desempenho animal em função da suplementação protéica pode não ser devido a mudanças no consumo de forragem mas, sim, devido a mudanças na digestibilidade ou eficiência metabólica de utilização de nutrientes, incluindo efeitos de proteína degradável vs. não degradável no rúmen.

Suplementos protéicos contendo mais que 20% de proteína bruta resultam em maiores respostas em consumo de forragem que suplementos

contendo menos que 20% de proteína bruta. O uso de suplementos de baixa proteína bruta têm mostrado aumento no consumo de forragem, mas o incremento em consumo ainda pode não ser o bastante para o animal satisfazer suas exigências de manutenção ou crescimento (Preston, 1982).

Em função da melhora no consumo e na digestibilidade do pasto seco, o uso de suplementos ricos em proteína associados a cargas de pastejo adequadas, torna possível a exploração de vasta quantidade de forragem fibrosa de baixa aceitação pelos animais, as quais normalmente são desperdiçadas durante ou ao final de cada estação seca (Paulino, 1999).

Outro ponto importante, segundo Preston (1982), é que se a disponibilidade de forragem for inadequada, a suplementação protéica pode ser ineficiente. Por isso, a suplementação protéica de gramíneas secas de inverno deve ser usada conjuntamente com a vedação de pastagens, para que efetivamente funcione.

2.3) Hormônio do crescimento (GH)

2.3.1) Características do GH

A hipófise é uma glândula de secreção interna, situada na base do cérebro, protegida em uma concavidade do osso esfenoide e divide-se em adenohipófise e neurohipófise. O lóbulo anterior da adenohipófise é responsável pela secreção do GH, além de outros hormônios (Crooker *et al.* 1990).

O GH é um polipeptídeo de cadeia única, formado por 191 aminoácidos, com um peso molecular de 21,819 kDa, calculado a partir da seqüência de aminoácidos. É sintetizado e secretado pela hipófise sob controle hipotalâmico e pertence à mesma família dos hormônios prolactina e lactógeno placentário, todos eles compartilhando certas características imunológicas e estruturais (Suzuki Júnior, 2001).

2.3.2) Controle da secreção do GH

Burton *et al.* (1994) enfatizaram que a concentração sanguínea de GH sofre regulação de uma série de alças de feedback, controladas por secreções hormonais e de outros fatores, afetando não somente a secreção, como também a transcrição e a tradução do mRNA do GH.

Em ruminantes, a secreção do GH é assíncronica e episódica e apresenta maior concentração em machos (Breier & Gluckman, 1991). Essa secreção é controlada primariamente por um mecanismo dual exercido por dois neuropeptídeos hipotalâmicos, que são secretados no sistema porta-hipofisário, para um acesso rápido e direto à adenohipófise (Furlan, 1998). O hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH), produzido no hipotálamo, estimula a síntese de GH por aumentar os níveis intracelulares de AMPc que, por sua vez, ativam proteína quinase A - Adenilato Ciclase (Dana & Karin, 1989). Entre os fatores que controlam negativamente a síntese do GH encontram-se a somatostatina (SIRF) que se liga ao receptor de membrana e diminui a concentração intracelular de AMPc e a activina, outra proteína presente nos somatotrófos que controla a síntese do GH por inibição do fator PIT-1 (GHF-1), denominado proteína de ativação do gene do GH que se liga a regiões do gene do GH em cobaias.

Segundo Barnes *et al.* (1985), o GH liberado da adenohipófise atinge a circulação periférica e, quando em elevada concentração sanguínea, promove um "feedback" negativo no hipotálamo, inibindo a liberação de GHRH e estimulando a secreção de SIRF. A secreção elevada de IGF-I e suas proteínas de ligação pelo fígado, as quais estão associadas concentrações mais altas de GH, exercem um controle inibitório crônico na secreção de GH, através de sua ação nos sítios regulatórios superiores (adenohipófise, hipotálamo e SNC).

Segundo Breier & Sauerwein (1995), o status nutricional exerce um papel central na determinação da concentração plasmática de GH. Durante os

períodos de deficiência nutricional, ocorre elevação na concentração plasmática de GH, a qual está associada à redução no feedback negativo exercido pela SIRF, em virtude da menor produção desse neuropeptídeo pelo hipotálamo.

2.3.3) Mecanismo de ação

O GH promove resposta fisiológica através da interação direta com seus receptores teciduais presentes na membrana citoplasmática e, indireta através de estímulo à produção de fatores de crescimento, principalmente o IGF-I ou, ainda, através da modulação de outros hormônios como a insulina (Pell & Bates, 1990). O GH estimula os processos anabólicos como a divisão celular, crescimento do esqueleto e a síntese de proteínas, denominada de "atividade promotora de crescimento". Além disso, exerce efeitos metabólicos importantes como a elevação da taxa de oxidação de gorduras (atividade lipolítica) e inibição do transporte de glicose para os tecidos periféricos (atividade diabetogênica). Entretanto, de acordo com Davis *et al.* (1992), a função mais importante do GH é sua influência na formação de proteínas e ácidos nucleicos nos tecidos corporais. Esse estímulo à síntese protéica é provavelmente resultante de aumento na atividade dos ribossomos envolvidos no processo de tradução.

Segundo Furlan (1998), a resposta inicial do tecido adiposo ao GH é semelhante à da insulina, que consiste num aumento do transporte e oxidação da glicose e na aceleração do metabolismo da glicose para a formação de ácidos graxos e CO₂. O efeito "insulina-like" (semelhante à insulina) inicial do GH é transitório e não pode ser novamente induzido até que sejam decorridas várias horas. Existem evidências de que esse efeito seja produzido pela interação do GH com os receptores da insulina e que essa refratariedade ocorra num sítio pós-receptor.

Uma segunda resposta do tecido adiposo ao GH é a estimulação à lipólise, que pode ser observada após aproximadamente duas horas da exposição ao hormônio, sendo ainda que essa resposta não é sujeita à refratariedade.

Contrariamente ao efeito "insulina-like", o efeito lipolítico necessita da presença contínua do hormônio ligado ao receptor por algumas horas, para se obter resposta consistente (Furlan, 1998).

Da mesma forma que ocorre com o GH, os efeitos do IGF-I podem ser divididos em efeitos metabólicos agudos, que ocorrem dentro de segundos ou minutos após a formação do complexo IGF-I-receptor e, de longa duração, que ocorrem horas após o acoplamento (Le Gac *et al.* 1996). Nos ruminantes os efeitos de curta duração podem estar relacionados com a inibição do catabolismo protéico. Breier *et al.* (1986) verificaram que em condições agudas de desnutrição a concentração de GH aumenta em reflexo a fatores como hipoglicemia, estresse e baixo nível sérico de ácidos graxos livres. Este aumento de secreção de GH, diante de aportes nutricionais reduzidos, é devido à diminuição do "feed-back" negativo desempenhado pela somatostatina (Breier *et al.* 1994). Outro efeito observado durante a restrição alimentar é a diminuição dos receptores de GH hepáticos (Suzuki Júnior, 2001). O efeito de longa duração do GH resulta no aumento do aporte de nutrientes para os tecidos alvo. Este efeito depende das condições nutricionais e fisiológicas em que o animal se encontra. O crescimento dos tecidos ósseo e muscular na época da puberdade e a regulação da composição corporal em indivíduos adultos exemplificam o efeito de longa duração do GH (Breier *et al.* 1988; Pell & Bates, 1990).

Burton *et al.* (1994) relataram que a concentração sanguínea de GH nos bovinos varia de 10 a 15 ng/ml nos primeiros meses de vida, caindo para 2 a 8 ng/ml durante a pré-puberdade, atingindo picos de 15 a 18 ng/ml próximo à puberdade e estabilizando-se na faixa de 5 a 10 ng/ml no animal adulto. Já a concentração basal de IGF-I é bem mais elevada do que a de GH, variando de 100 ng/ml (antes da puberdade) até 2000 ng/ml (durante a puberdade), com valor médio ao redor de 100 ng/ml em animais adultos.

Bovinos tratados com rbST apresentam elevação na concentração sanguínea basal de GH da ordem de 2 a 10 vezes, enquanto que a de IGF-I eleva-se de 2 a 5 vezes, dependendo da dosagem utilizada (Furlan, 1998).

2.3.4) Receptores de GH e IGF-I

O passo inicial da ação de um hormônio peptídico é a sua ligação com os receptores nos tecidos alvo. Os receptores de GH têm sido encontrados em vários tecidos, incluindo hepatócitos, adipócitos linfócitos, macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos, condrócitos e osteoblastos (Furlan, 1998).

Davis & Simmen (1997) identificaram proteína ligante de GH, denominada de "growth hormone binding protein" (GHBP), cuja sequência de aminoácidos corresponde ao domínio N terminal do receptor de GH. As funções da GHBP não estão perfeitamente definidas, porém acredita-se que sejam responsáveis pelo prolongamento da meia-vida do GH presente na circulação.

O receptor de GH (GHR) é uma proteína de 638 aminoácidos, sintetizada a partir de um mRNA produzido por um único gene. Estudos realizados com animais hipofisectomizados ou tratados cronicamente com GH têm demonstrado que o GH regula a expressão do seu receptor. Assim, Frick *et al.* (1990) observaram uma elevação de cinco vezes na quantidade de mRNA do GHR no músculo e no fígado de ratos hipofisectomizados, enquanto que no tecido adiposo houve uma redução de 50%.

De acordo com Burton *et al.* (1994), existem pelo menos dois tipos de receptores para GH: um de alta e outro de baixa afinidade. A intensidade com que a célula responde ao estímulo do GH (atividade da Adenilato Ciclase) parece estar relacionada com a concentração de receptores de alta afinidade presentes na membrana celular. Entretanto, ainda não está claro o que determina o aumento ou a diminuição destes receptores na membrana (Suzuki Júnior, 2001).

Os fatores que regulam a concentração tecidual de receptores parecem afetar apenas aqueles de alta afinidade. Somente os receptores de alta afinidade são cronicamente sensibilizados pelas elevadas concentrações sanguíneas de GH, enquanto que concentrações muito elevadas de GH, como no caso de uma única injeção com dosagem elevada, promovem uma diminuição na concentração nos receptores de alta afinidade (efeito agudo). Estudos com novilhos em crescimento evidenciaram alta correlação entre a capacidade dos receptores de alta afinidade e taxas de crescimento e concentrações plasmáticas de IGF-I, enquanto que os de baixa afinidade não apresentaram tal correlação, podendo estar simplesmente relacionados com a remoção de GH (Furlan, 1998).

Apesar dos receptores de alta afinidade serem saturados pelas concentrações normais de GH sanguíneo, a taxa de renovação desses receptores é acelerada pela elevação crônica de GH plasmático. A combinação da sensibilização com a taxa de renovação dos receptores ocupados, quando o GH plasmático encontra-se elevado, parece ser a chave para explicar os efeitos do rbST na produção animal (Baumrucker *et al.* 1994).

Os receptores de IGF-I também possuem ampla distribuição. Muitas células possuem dois tipos de receptores para o IGF-I, denominados Tipo I e Tipo II. O Tipo I possui uma estreita homologia estrutural e funcional com o receptor da insulina. Entretanto, sua ligação preferencial é com o IGF-I, seguido do IGF-II e da insulina (quando esta se encontra em concentrações elevadas). O Tipo II não é estruturalmente relacionado ao Tipo I ou ao receptor da insulina. Este tipo liga-se preferencialmente ao IGF-II, possuindo baixa afinidade pelo IGF-I e nenhuma pela insulina (Baumrucker *et al.* 1994).

2.3.5) Suplementação com hormônio do crescimento bovino recombinante (rbST)

A) Efeitos no perfil hormonal e nos metabólitos sanguíneos

O tratamento com rbST promove uma elevação da concentração sanguínea de GH de maneira dose dependente, a qual é acompanhada da elevação de IGF-I. Early *et al.* (1990a) verificaram que, após a administração do rbST, a concentração sanguínea de GH sofre rápida elevação, que perdura por 4 a 8 horas, retornando ao normal após este período. Este aumento na concentração sanguínea de GH se deve exclusivamente à administração de rbST, uma vez que o tratamento com hormônio exógeno provoca significativa redução na quantidade de GH estocado nos somatotrófos, conforme observado por Moseley *et al.* (1992).

O aumento na concentração de IGF-I em resposta à aplicação de rbST tem comportamento dose dependente e, segundo Dalke *et al.* (1992), estes acréscimos na concentração de IGF-I aumentam linearmente ao longo do período de tratamento, com tendência de queda ao final do período.

Early *et al.* (1990a) estudando alguns parâmetros sanguíneos de novilhos tratados com rbST, observaram que os mesmos estiveram na faixa da normalidade. Entretanto, quando comparadas ao controle, as concentrações de uréia, creatinina e bilirrubina apresentaram-se significativamente mais baixas. O decréscimo nas concentrações da uréia está associado com o aumento na retenção de nitrogênio promovido pelo rbST, enquanto que as menores concentrações de bilirrubina encontradas foram atribuídas à maior taxa de remoção desse metabólito, em virtude do maior desenvolvimento do fígado, observado nos animais tratados.

B) Efeitos no desempenho produtivo

Os efeitos do rbST no desempenho de bovinos de corte apresentam grandes variações em função da dosagem utilizada, fase da produção

(crescimento ou terminação), dieta oferecida, sexo dos animais e forma de administração (Furlan, 1998).

A administração de rbST estimula o ganho de peso em bovinos (Eisemann *et al.* 1989; Moseley *et al.* 1992). A resposta dos animais é variável com acréscimos que vão desde ganho 0 (Dalke *et al.* 1992) até 45% (Houseknecht *et al.* 1992) comparando-se aos animais controle. Além disso, a eficiência alimentar (EA) é, muitas vezes, aumentada com a administração de rbST (McShane *et al.* 1989; Early *et al.* 1990a).

Trabalhando com animais em fase de terminação, Moseley *et al.* (1992) verificaram que o rbST, administrado diariamente em doses que variaram de 16,5 a 33 µg/Kg de peso vivo por dia, elevou o GPD em 9%, enquanto que a EA apresentou melhoria de 14%. Administrando 20,6 mg/dia de rbST na fase de crescimento, Early *et al.* (1990b) verificaram aumento de 15% no GPD e melhoria de 11,7% na EA de novilhos.

A ingestão de matéria seca (IMS) também apresenta respostas variáveis à administração do rbST, sendo que, de maneira geral, sofre redução quando se utilizam animais em fase de terminação, ao passo que naqueles em crescimento não se observam alterações (Furlan, 1998). Neste sentido, Early *et al.* (1990b) não verificaram nenhum efeito do rbST sobre a IMS de novilhos em fase de crescimento, enquanto que Moseley *et al.* (1992) e Dalke *et al.* (1992) relataram queda na IMS pelos animais que receberam o hormônio exógeno, apresentando comportamento dose dependente.

C) Efeitos sobre o trato reprodutivo

Existem evidências que o GH pode estar envolvido no desenvolvimento puberal de bovinos. Novilhos hemicastrados exibem maiores acréscimos nas concentrações plasmáticas de GH antes da puberdade que bovinos intactos, e novilhas imunizadas com o fator contra o GHRH mostraram atraso na entrada à puberdade quando comparadas com novilhas controle. Exemplos de estudos nos

quais as concentrações plasmáticas de GH são artificialmente elevadas são pouco efetuados (Harvey *et al.* 1995).

Os efeitos do GH sobre o funcionamento reprodutivo têm sido examinados em 4 modelos de deficiência de GH: ratos hipofisectomizados, ratos geneticamente deficientes em GH, ratos passivamente imunizados contra o hormônio de liberação do GH (GHRH) e nos casos clínicos humanos (Harvey *et al.* 1995).

Segundo dados de Deaver & Bryan (1999), em machos, a somatotropina exógena pode participar, controlando em parte, a espermatogênese e a esteroidogênese. As células de Sertoli parecem ser a maior fonte testicular de IGF-I. Além disso, receptores para IGF-I têm sido encontrados nas células de Leydig (Lin *et al.* 1986).

Swanlund *et al.* (1995), investigando os diferentes efeitos do GH exógeno sobre os testículos de varrões pré-puberes, demonstraram que os diâmetros dos túbulos seminíferos do grupo tratado com GH foi 56% maior que o do grupo controle e que a massa relativa de espermatócitos e espermátides no grupo tratado excedeu significativamente o grupo controle. Esses resultados sugeriram que o GH exógeno promoveu maturação tubular e de células de Sertoli, definiu o maior crescimento das células de Sertoli e antecipou o início da espermatogênese.

Os parâmetros espermáticos são diminuídos nos animais deficientes em GH. Os efeitos da deficiência de GH nos ratos mostram uma associação com a espermatogênese tanto quanto uma diminuição da motilidade espermática (Gravance *et al.* 1997).

Existem poucos dados sobre os efeitos do GH e do IGF-I sobre a função testicular em bovinos. Jaillard *et al.* (1987) demonstraram que o IGF-I, *in vitro*, tem ação estimulatória sobre as células de Sertoli de suínos, aumentando a síntese de DNA e induzindo proliferação celular. Benton *et al.* (1995), citados

por Santos *et al.* (1999), mostraram que o IGF-I afeta a diferenciação de células de Leydig imaturas em células maduras.

Segundo Santos *et al.* (1999), é possível que o GH possa ter efeito sobre a espermatogênese , mediado pela liberação de IGF-I, que pode prevenir a morte de células apoptóticas no epitélio seminífero, aumentando, então, a eficiência da espermatogênese.

3) MATERIAL E MÉTODOS

3.1) Localização do experimento

O experimento foi conduzido no período de junho a outubro de 2000, na Fazenda Potreiros, no município de Três Pontas - Minas Gerais. Três Pontas está localizada na Região Sul do estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas 21° 26' de latitude, 45° 51' de longitude, uma altitude média de 885 metros e uma área total de 689Km² (IBGE, 1997 e IBGE, 1999).

3.2) Animais e condições de manejo

Foram utilizados 54 novilhos inteiros meio sangue Nelore x Simental, com idade inicial média de 7 meses \pm 15 dias e peso inicial médio de 199 \pm 43Kg, em bom estado sanitário e nutricional. Antes do início do experimento todos os animais receberam tratamentos contra endo e ectoparasitas e foram vacinados contra a febre aftosa.

Foi realizado período pré-experimental de 15 dias com objetivo de adaptação dos animais ao suplemento protéico e ao manejo adotado.

O suplemento protéico utilizado durante o experimento foi o SAAG Proteinado Seca®, fornecido à base de 1g do produto/Kg de peso vivo por dia, em cochos cobertos, misturado na proporção de 1:1 com sal comum para adaptação dos animais à ingestão de uréia, nas primeiras semanas de fornecimento. A composição básica do SAAG Proteinado Seca® é a seguinte: Calcário Calcítico, Farelo de Soja, Fosfato Bicálcico, Iodato de Cálcio, Milho Integral Moído, Óxido de Magnésio, Óxido de Zinco, Selenito de Sódio, Sulfato de Cobalto, Sulfato de Cobre, Sulfato de Ferro, Uréia Pecuária, Aditivo Promotor de Crescimento, Cloreto de Sódio (Sal Comum), Enxofre Ventilado (Flor de Enxofre) e Monóxido de Manganês.

Os novilhos foram mantidos em três piquetes, com média de 20ha cada, formados com pastagens de braquiária e setária, os quais foram vedadas durante

o período das águas. Todos os piquetes eram dotados de cochos cobertos e aguada, além de boa área de sombreamento.

Foram coletadas amostras das pastagens utilizadas no experimento nos dias 0, 60 e 120, que foram analisadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA quanto à matéria seca, proteína bruta, fibra detergente neutro, fibra detergente ácido e cálcio e fósforo, segundo A.O.A.C. (1990). Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados das análises das pastagens utilizadas durante o experimento.

Dia	Pasto	MS(%)	PB(%)	FDA(%)	FDN(%)	Ca(%)	P(%)
0	1	33,81	5,80	37,17	66,03	0,36	0,12
0	2	30,55	5,89	42,35	67,68	0,38	0,11
0	3	30,57	5,80	40,36	66,80	0,36	0,11
60	1	38,54	5,05	38,78	67,71	0,39	0,14
60	2	37,89	5,05	35,13	68,44	0,39	0,12
60	3	37,50	5,05	38,12	67,91	0,38	0,12
120	1	42,38	6,90	45,29	74,48	0,40	0,12
120	2	46,86	6,96	43,80	74,25	0,40	0,12
120	3	43,45	6,90	44,78	74,15	0,40	0,11

3.3) Tratamentos e pesagem dos animais

Foram avaliadas três dosagens hormonais: 0 (n = 18; os animais receberam injeções de solução salina), 250 (n = 18) e 500mg de rbST (n = 18). A somatotropina bovina recombinante (rbST) utilizada foi o Boostin®¹, de liberação lenta injetável com vitamina E. A aplicação foi subcutânea, na fossa isquiorretal, a cada 14 dias, mesma ocasião em que os animais eram pesados.

Coopers Brasil Ltda.

3.4) Ganho de peso

Para avaliação do peso final (PF), ganho de peso (GP) e ganho de peso médio diário (GMPD), foram utilizados os 54 novilhos, sendo 18 em cada grupo (0, 250 e 500mg de rbST). Foram realizadas dez pesagens, com intervalos de 14 dias entre elas.

O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E(ij), \text{ sendo:}$$

Y_{ij} = o valor observado correspondente à dose de rbST i dos animais do grupo de peso j ;

μ = média geral do experimento;

T_i = o efeito da dose de rbST i , com $i = 1, 2, 3$;

B_j = o efeito do grupo de peso j , com $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$;

$E(ij)$ = o erro experimental associado a Y_{ij} que por hipótese tem distribuição normal com média zero e variância δ^2 .

As variáveis PF, GP e GMPD foram analisadas como medidas repetidas pelo procedimento MIXED do sistema SAS[®] - Statistical Analysis System (S.A.S. 1995; Littell *et al.* 1996).

3.5) Biometria Testicular

A inspeção e exame semiológico do aparelho reprodutor ocorreu nos dias 0 e 126 do experimento. Para aferição da circunferência escrotal (CE) foi utilizada uma fita métrica flexível, graduada em 0,1 cm e a leitura realizada na horizontal, no ponto equivalente ao máximo perímetro da bolsa escrotal. Empregando-se paquímetro, foi medido o comprimento dos testículos (CT), medida tomada no sentido próximo - distal de cada testículo, excluindo-se a cauda do epidídimo, que é estrutura facilmente detectada pela palpação, assim como a largura (LT), no sentido médio - lateral, e espessura (ET), no sentido crânio - caudal. Para se obter os valores finais da biometria testicular, descontou-

se a medida da prega da bolsa escrotal. Para essas variáveis foram utilizados os 54 novilhos, sendo 18 em cada grupo (0, 250 e 500mg de rbST).

O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E(ij), \text{ sendo:}$$

Y_{ij} = o valor observado correspondente à dose de rbST i dos animais do grupo de peso j ;

μ = média geral do experimento;

T_i = o efeito da dose de rbST i , com $i = 1, 2, 3$;

B_j = o efeito do grupo de peso j , com $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$;

$E(ij)$ = o erro experimental associado a Y_{ij} que por hipótese tem distribuição normal com média zero e variância δ^2 .

As variáveis CE, CT, LT e ET foram analisadas pelo procedimento ANAVA do SAS®.

3.6) Avaliação física e morfológica do sêmen

Para avaliação de defeitos estruturais dos espermatozóides, foi utilizado o método de preparação úmida para, sob microscopia de contraste de fase, contar todos os defeitos observados. Para isso, colocou-se sêmen até turvar 1000 μ l de solução formol - salina. A classificação das patologias seguiram os padrões estabelecidos por FONSECA (1989). Para concentração foram utilizados 20 μ l de sêmen de cada ejaculado que foram diluídos em 4000 μ l de solução formol - salina, resultando em diluição de 1:200; posteriormente a análise foi feita em câmara hematocimétrica de Neubauer.

A coleta de sêmen foi realizada nos dias 0 e 126, com os ejaculados sendo obtidos pelo método da eletroejaculação por um tempo máximo de 10 minutos, e mantidos a uma temperatura de 37° C. Foram efetuadas as avaliações quanto às características físicas (vigor e motilidade progressiva) e morfológicas (porcentagem de espermatozóides normais e com defeitos) do sêmen. Foram utilizados 36 animais, sendo 12 de cada grupo (0, 250 e 500mg de rbST).

Realizou-se análise descritiva das variáveis relacionadas ao sêmen, da seguinte forma:

- Ejaculação: analisou-se a porcentagem de animais que conseguiram ejacular e a partir desses fizeram-se demais análises.
- Espermatozóides normais (SPTZ N): analisou-se a porcentagem de animais que tiveram acima ou abaixo de 70% de espermatozóides normais.
- Espermatozóides com defeitos (SPTZ D): analisou-se a porcentagem de animais que tiveram acima ou abaixo de 30% de espermatozóides com defeitos.
- Vigor (V): analisou-se a porcentagem de animais que apresentaram vigor acima ou abaixo de 3.
- Motilidade progressiva (MP): analisou-se a porcentagem de animais que apresentaram motilidade progressiva acima ou abaixo de 70%.

3.7) Análise Histométrica

Para a análise histométrica, foram utilizados 9 novilhos, sendo 3 de cada grupo (0, 250 e 500mg de rbST), os quais foram castrados em três épocas intervaladas de 14 dias entre elas, para posterior avaliação histológica dos testículos. Na castração foram retirados fragmentos de ambos testículos que foram colocados por 24h em Bouin, desidratados por passagens em soluções de álcool de concentrações crescentes, diafanizados em xilol, incluídos em parafina, cortados com 5 μ m e corados pela técnica da hematoxilina-eosina (Luna, 1968).

Na avaliação histológica mediu-se, em cada animal, o diâmetro de 200 túbulos seminíferos (100 em cada testículo), seccionados transversalmente e de contorno o mais circular possível, escolhidos ao acaso. Mediu-se também a altura do epitélio de 40 túbulos (20 em cada testículo). As medidas foram feitas

com auxílio de ocular micrométrica Zeiss Kpl – W10x, acoplada à objetiva de 40x de um microscópio.

Em cada seção de túbulo seminífero medido, registrou-se o número dos diferentes tipos de células do epitélio tubular. Os números obtidos foram corrigidos para o diâmetro nuclear ou nucleolar, segundo a fórmula de Abercrombie (1946), citado por Castro *et al.* (1997):

$$\text{> Contagem real} = \text{contagem bruta} \times \left[\frac{\text{espessura do corte}}{\text{espessura do corte} + \text{diâmetro nuclear/nucleolar}} \right]$$

Os diâmetros nucleares e nucleolares médios foram obtidos através da medida de 10 núcleos/nucleólos de cada tipo celular estudado, em cada testículo e foram medidos com o auxílio de ocular micrométrica ZeissKpl-W 10x, acoplada à objetiva de 100x.

Foi utilizado também o “fator de correção de célula de Sertoli” (Clermont 1955), através do qual as contagens de células germinativas passam a ser expressas em termos da razão célula germinativa/célula de Sertoli (Castro *et al.* 1997).

Foram analisadas as seguintes variáveis: diâmetro tubular (DT), altura de epitélio (AE) e as relações espermatogônias/Sertoli (SPG/S), espermátócitos em pré-leptóteno/Sertoli (PL/S), espermátócitos em paquíteno/Sertoli (PQ/S), espermátides arredondadas/Sertoli (ARR/S) e espermátides arredondadas/espermatogônias (ARR/SPG). Nestas análises foram realizados testes de contrastes e de regressão do SAS®.

O modelo estatístico foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + EC_j + T \times S(ij) + L_k + E(ijk)$$

Y_{ijk} = o valor observado correspondente à dosagem hormonal i da semana j do lado k ;

T_i = o efeito da dosagem hormonal i , com $i = 1, 2, 3$;

EC_j = o efeito da época de castração j , com $j = 1, 2, 3$;

$T_{xS}(ij)$ = o efeito da interação entre a dosagem hormonal i com a semana j ;

L_k = efeito do lado k , com $k = 1, 2$;

$E(ij)$ = o erro experimental associado a Y_{ij} que por hipótese tem distribuição normal com média zero e variância δ^2 .

4) RESULTADOS E DISCUSSÃO

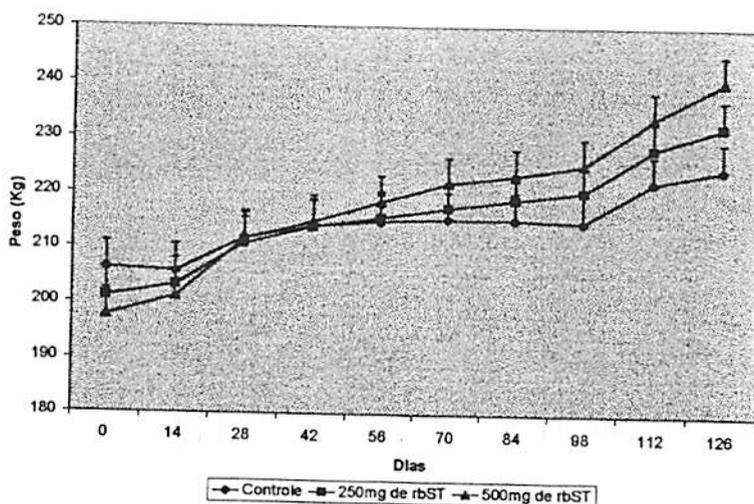
4.1) Desempenho

Na tabela 2 estão apresentados os resultados da análise estatística e as médias das variáveis peso final, ganho de peso total e ganho de peso diário para os animais tratados com 0, 250 e 500mg de rbST.

Tabela 2: Resultados da análise de variância para as variáveis peso final (PF), ganho de peso (GP) e ganho de peso diário (GPD) durante o período experimental.

Variáveis (Kg)	DH (mg de rbST)			Prob (Pr > F)		
	0	250	500	DH	Dias (D)	DH x D
PF	214,45	216,13	218,78	0,7992	0,0001	0,0001
GP	30,11	31,28	42,67	0,0055	0,0001	0,8878
GPD	0,240	0,247	0,338	0,0054	0,0001	0,9147

Com relação ao peso final dos animais, não foi observado efeito significativo das dosagens hormonais ($P > 0,7992$), porém, houve efeito significativo dos dias de experimento ($P < 0,0001$) e da interação entre as dosagens hormonais e os dias ($P < 0,0001$). Apesar de não haver encontrado diferença significativa, os animais tratados com 500mg de rbST que, no início do experimento tinham o menor peso médio, obtiveram a maior média de peso final (Figura 1).



Figural: Peso corporal, dos animais dos grupos tratados com 0, 250 e 500mg de rbST, durante o período experimental.

Quanto ao ganho de peso, observou-se efeito significativo das dosagens hormonais ($P < 0,0055$) e dos dias de experimento ($P < 0,0001$), porém, não foi observado efeito significativo da interação entre dosagens hormonais e dias ($P > 0,8878$). Os animais tratados com 500mg de rbST tiveram ganho de peso superior aos demais em cinco das dez pesagens realizadas (Figura 2).

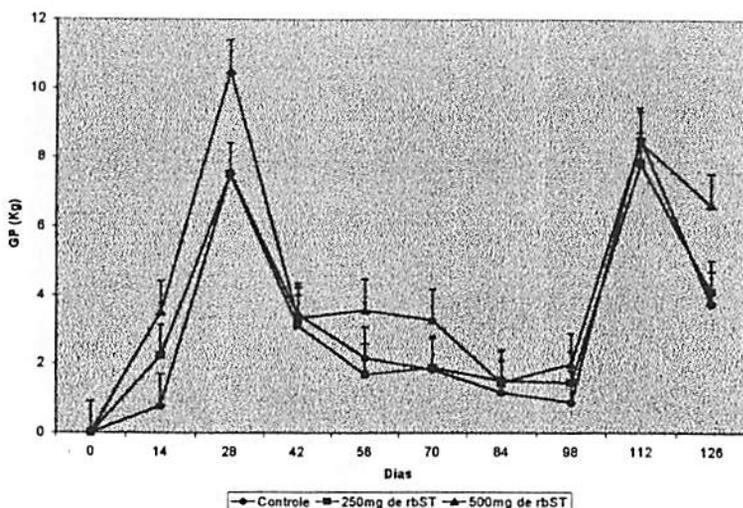


Figura 2: Ganho de peso (GP) dos animais dos grupos tratados com 0, 250 e 500mg de rbST, durante o período experimental.

À semelhança do ganho de peso, foi observado, também, efeito significativo das dosagens hormonais ($P < 0,0054$) e dos dias de experimento ($P < 0,0001$) para o ganho de peso diário. Não foi observado efeito significativo da interação entre dosagens hormonais e dias ($P > 0,9147$). Os animais tratados com 500mg de rbST tiveram os maiores ganhos diários, assim como ocorreu com o ganho de peso (Figura 3).

Os resultados de desempenho obtidos evidenciaram que os animais tratados com 500mg de rbST mostraram-se superiores em relação aos demais. O aumento do ganho de peso desse grupo em 28,5%, quando comparado aos demais grupos, é superior aos resultados obtidos por Early *et al.* (1990a), que obtiveram um aumento de 15% em animais suplementados diariamente com 30mg de rbST em relação ao grupo controle, e é semelhante aos resultados obtidos por Enright *et al.* (1990) que obtiveram aumentos no ganho de peso em torno de 25%.

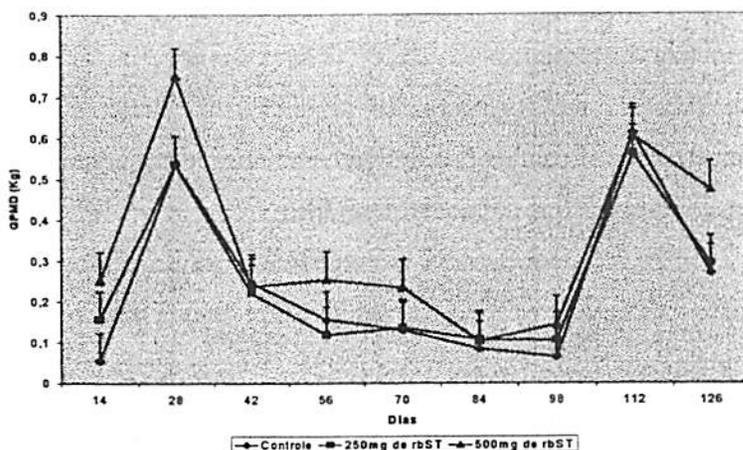


Figura 3: Ganho de peso médio diário (GPMD) dos animais dos grupos tratados com 0, 250 e 500mg de rbST, durante o período experimental.

O fato da dosagem de 250mg de rbST não apresentar resultados significativamente diferentes do grupo controle está de acordo com os resultados obtidos por Furlan (1998), o qual verificou que essa dosagem, aplicada a cada 14 dias, não teve efeito sobre o desempenho produtivo de bovinos de corte.

Outros trabalhos foram realizados utilizando dosagens e intervalos diferentes. Dalke *et al.* (1992), administrando implantes semanais com concentrações de 40, 80 e 100 mg de rbST, não observaram diferenças no ganho de peso diário. McShane *et al.* (1989) registraram que a suplementação com rbST resultou em um acréscimo no ganho de peso em novilhos de 12 a 15 meses e que o mesmo não ocorreu em novilhos dos 7 aos 11 meses de idade. Ademais, Stewart *et al.* (1993) não obtiveram, em seu experimento, mudanças no ganho de peso diário, quando compararam animais suplementados com rbST com o grupo controle. Estes estudos indicam que a idade, dosagem, modo de aplicação e duração da suplementação podem afetar as respostas ao rbST no desempenho produtivo dos animais.

4.2) Aparelho reprodutor

4.2.1) Biometria Testicular

Na Tabela 3 estão expostos os resultados da análise estatística e as médias das variáveis circunferência escrotal e comprimento, largura e espessura testiculares dos animais dos tratamentos testados.

Tabela 3: Médias de circunferência escrotal (CE), comprimento (CT), largura (LT) e espessura testiculares (ET) dos animais dos grupos tratados com 0, 250, 500mg de rbST.

Variáveis (cm)	DH (mg de rbST) ^a			Prob (Pr > F)		
	0	250	500	DH	Dias (D)	DHxD
CE	23,02 ^b	23,47 ^b	24,35 ^a	0,0500	0,0001	0,1635
CT	7,75 ^a	8,33 ^a	8,33 ^a	0,1223	0,0001	0,7091
LT	4,51 ^a	4,87 ^a	4,94 ^a	0,0600	0,0001	0,4532
ET	4,15 ^a	4,40 ^a	4,45 ^a	0,2194	0,0001	0,4250

^a Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo Teste de SNK.

Com relação à circunferência escrotal, foi observado efeito significativo das dosagens hormonais ($P < 0,05$) e dos dias de experimento ($P < 0,0001$), mas não houve efeito significativo da interação entre dosagens hormonais e dias ($P > 0,1635$). O grupo tratado com 500mg de rbST apresentou-se superior aos demais (Figura 4).

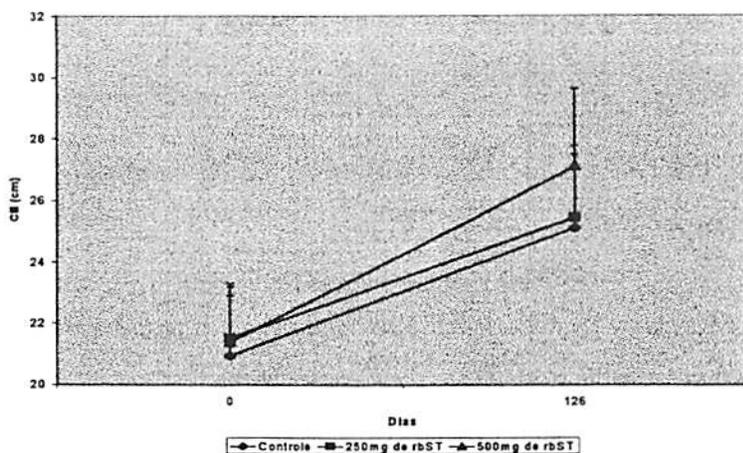


Figura 4: Circunferência escrotal média dos animais tratados com 0, 250 e 500mg de rbST, no início e no fim do experimento.

Quanto às demais variáveis analisadas, observou-se que houve efeito significativo dos dias de experimento ($P < 0,0001$), porém, não houve efeito significativo das dosagens hormonais e da interação entre dosagens hormonais e dias. Apesar deste resultado, pode-se notar que para todas as características o grupo tratado com 500mg de rbST apresentou as maiores médias.

Assim como o presente trabalho demonstrou maior crescimento testicular para os animais tratados com 500mg de rbST, Harvey *et al.* (1995), ao examinar a reprodução em ratos transgênicos machos expressando genes híbridos, incluindo o GH humano e o GH bovino, mostraram que ambos levaram ao crescimento dos testículos e do comprimento da vesícula seminal. Da mesma forma, Gravance *et al.* (1997), ao estudar ratos machos deficientes em GH, demonstraram que os mesmos apresentavam testículos menores quando comparados com ratos normais.

Em pesquisa sobre o desenvolvimento puberal e a função testicular em ratos deficientes em GH, Bartlett *et al.* (1990) sugeriram que a redução no tamanho testicular pode ser causada pela deficiência em GH e que isso pode

refletir na redução da população de células de Sertoli e que, conseqüentemente, o GH é importante no desenvolvimento puberal.

4.2.2) Análise Espermática

Na Tabela 4 são mostrados os dados da análise espermática dos animais dos tratamentos.

Tabela 4: Número de animais que ejacularam, porcentagem de espermatozóides normais (SPTZN) e com defeitos (SPTZD), vigor espermático e motilidade progressiva em animais submetidos à aplicação de rbST.

DH (mg de rbST)		Ejaculou		SPTZ N (%)		SPTZ D (%)		Vigor		MP (%)	
		Sim	Não	<70	>70	<30	>30	<3	>3	<70	>70
0	Nº	3	9	3	0	0	3	2	1	3	0
	%	25	75	100	0	0	100	66,7	33,3	100	0
250	Nº	3	9	3	0	0	3	2	1	2	1
	%	25	75	100	0	0	100	66,7	33,3	66,7	33,3
500	Nº	4	8	3	1	1	3	2	2	3	1
	%	66,7	33,3	75,0	25,0	25,0	75,0	50,0	50,0	75,0	25,0

Os dados apresentados na Tabela 4 são descritivos e pode-se notar que a maioria dos animais, em todos os grupos, não ejacularam e, mesmo aqueles que o fizeram, apresentaram características de sêmen de animais pré-púberes, com baixa porcentagem de espermatozóides normais e baixa motilidade progressiva.

Em trabalho desenvolvido com ratos normais e deficientes em GH, Gravance *et al.* (1997) mostraram que a motilidade espermática foi significativamente maior no grupo normal do que no grupo deficiente ($75 \pm 1,44$ vs. $28 \pm 3,71\%$, $P < 0,001$). A porcentagem de espermatozóides normais foi também maior no grupo normal ($88 \pm 1,00$ vs. $75 \pm 6,9\%$, $P < 0,001$), assim como a concentração de espermatozóides na cauda do epidídimo.

4.3.3) Análise Histométrica

Foi realizado um contraste para avaliar se haviam diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo de animais tratados (250 e 500mg de rbST) para as características diâmetro do túbulo seminífero, altura do epitélio, das relações entre os números de células germinativas e o número de células de Sertoli e da relação entre espermátides arredondadas e espermatogônias.

Não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) das dosagens hormonais sobre o diâmetro dos túbulos seminíferos, entre as relações do número de células germinativas com o número de células de Sertoli e entre espermátides arredondadas e espermatogônias. Entretanto, houve efeito significativo das dosagens hormonais ($P < 0,0001$) e do contraste ($P < 0,0114$) sobre a altura do epitélio (AE) dos túbulos seminíferos. O efeito do contraste, que comparou a média do grupo controle versus a média dos dois grupos tratados, mostrou que não houve diferença significativa entre os animais tratados e não tratados, porém, houve diferença significativa quando se comparou o grupo tratado com 250 com o tratado com 500mg de rbST. A Figura 5 mostra os intervalos de confiança para as médias de AE para os animais dos tratamentos testados.

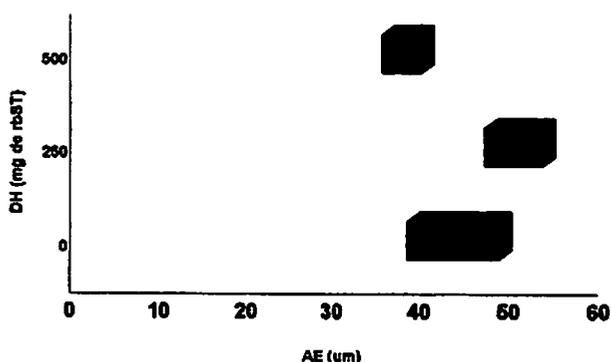


Figura 5: Altura do epitélio dos animais tratados com 0, 250 e 500mg de rbST.

A Figura 5 mostra que o grupo tratado com 500mg de rbST apresentou menores valores médios para a altura do epitélio. Este fato pode ter ocorrido em função de uma diminuição na concentração nos receptores das células germinativas, que são amplamente relacionadas com esta característica.

Assim como os resultados deste trabalho que não mostraram diferenças entre a relação do número de células Santos *et al.* (1999) também não encontraram diferença significativa para nenhum tipo celular estudado e, também, para o diâmetro do túbulo seminífero, comparando animais tratados com 500mg de rbST e animais controle.

Através de teste de regressão, analisaram-se o diâmetro tubular, a altura de epitélio, as relações do número de células germinativas/número de células de Sertoli e a relação entre o número de espermátides arredondadas/espermatogônias, nas três épocas de castração. Os efeitos das épocas de castração e das dosagens hormonais sobre o diâmetro tubular e altura de epitélio são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5: Efeito das épocas de castração (EC) e das dosagens hormonais (DH) sobre o diâmetro tubular (DT) e altura de epitélio (AE).

Variáveis	EC	DH (mg de rbST)			ECxDH Pr>F
		0	250	500	
DT	1	46,20	43,30	50,85	0,1246
	2	41,90	86,65	65,10	0,0001
	3	90,15	97,60	94,60	0,3301
AE	1	39,06	46,56	39,37	0,0001
	2	40,31	49,06	36,25	0,0001
	3	48,75	52,81	35,31	0,0001

Com relação ao diâmetro dos túbulos seminíferos, houve efeito quadrático da dosagem hormonal na época de castração 2 ($P < 0,0001$). O diâmetro tubular atingiu seu máximo na dosagem de 294mg de rbST e, a partir dessa dosagem, houve diminuição do mesmo (Figura 6).

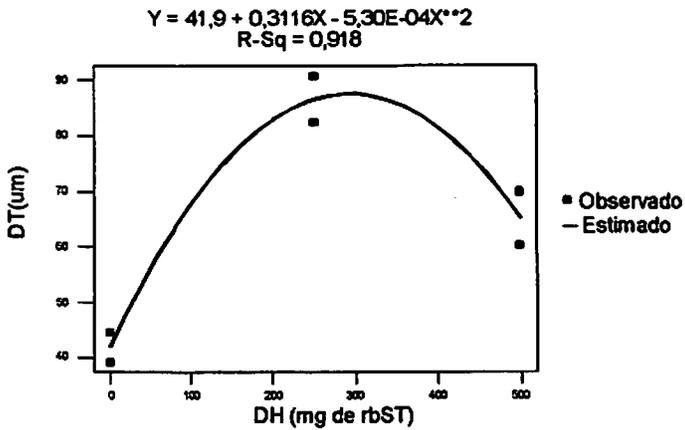


Figura 6: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 2, sobre o diâmetro do túbulo seminífero.

Quanto à altura de epitélio, houve efeito quadrático das dosagens hormonais sobre as três épocas de castração (Figuras 7, 8 e 9).

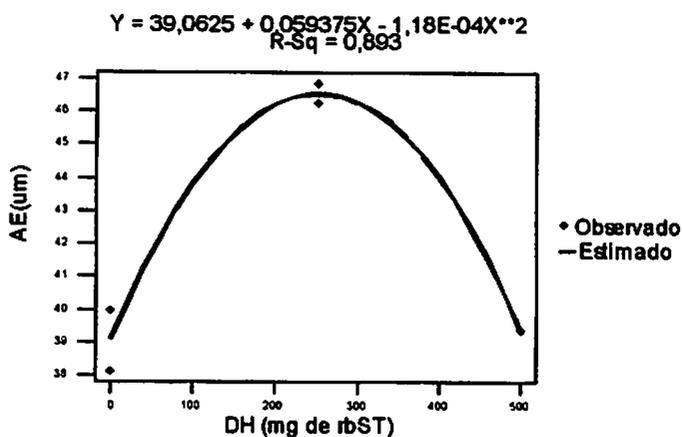


Figura 7: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 1, sobre a altura de epitélio (AE).

Nota-se que a dosagem hormonal influenciou, quadraticamente, a altura do epitélio, na época de castração 1 (Figura 7), na qual atingiu um máximo de $46,6\mu\text{m}$ na dosagem de $253,7\text{mg}$ de rbST.

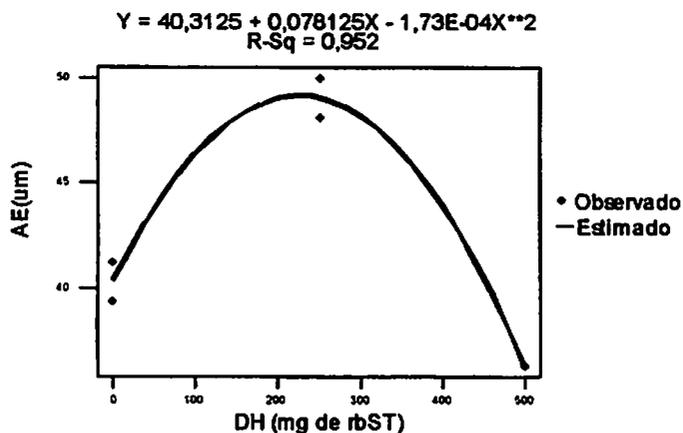


Figura 8: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 2, sobre a altura do epitélio (AE).

Na época de castração 2, a dosagem hormonal influenciou quadraticamente a altura do epitélio (Figura 8), que atingiu um máximo de 49,2µm na dosagem de 227,1mg de rbST.

Na época de castração 3, também houve influência quadrática da dosagem hormonal sobre a altura do epitélio (Figura 9), a qual atingiu o valor máximo de 53,9µm na dosagem de 172,6mg de rbST.

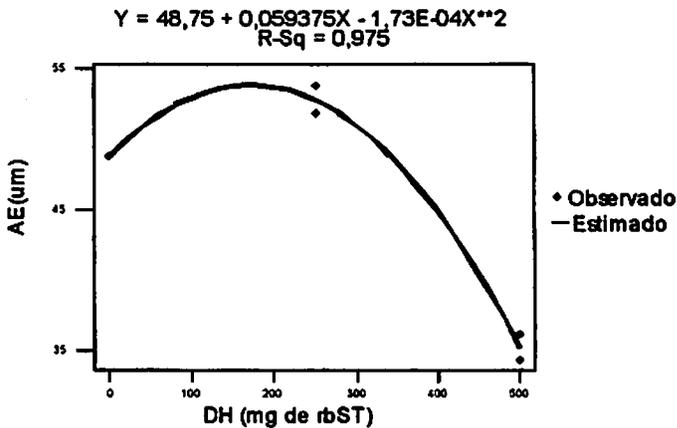


Figura 9: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 3, sobre a altura do epitélio (AE).

Na Tabela 6 são mostrados os efeitos das épocas de castração e das dosagens hormonais sobre as relações entre o número de células germinativas e o número de células de Sertoli e entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatogônias.

Tabela 6: Efeitos das épocas de castração (EC) e das dosagens hormonais (DH) sobre as relações espermatogônias/Sertoli (SPG/S), paquiteno/Sertoli (PQ/S), espermátides arredondadas/Sertoli (ARR/S) e espermátides arredondadas/espermatogônias (ARR/SPG)

Variáveis	EC	DH (mg de rbST)			ECxDH
		0	250	500	Pr>F
SPG/S	1	0,0097	0,0133	0,0116	0,3516
	2	0,0137	0,0179	0,0138	0,1773
	3	0,0315	0,0225	0,0203	0,0034
PQ/S	1	0,0061	0,1009	0,0497	0,1908
	2	0,1221	0,5260	0,4882	0,0001
	3	0,4998	0,6209	0,3919	0,0001
ARR/S	1	0,0000	0,0841	0,0157	0,5557
	2	0,0201	0,4882	0,0490	0,0006
	3	0,6883	0,7620	0,4214	0,0063
ARR/SPG	1	0,0000	6,1740	1,3912	0,2826
	2	1,4285	26,6347	3,2281	0,0003
	3	21,9853	34,1516	20,7756	0,0100

Na relação entre o número de espermatogônias e o número de células de Sertoli, foi observado efeito linear da dosagem hormonal, na época de castração 3 (Figura 10), sendo que a relação diminuiu à medida em que se aumentaram as dosagens hormonais.

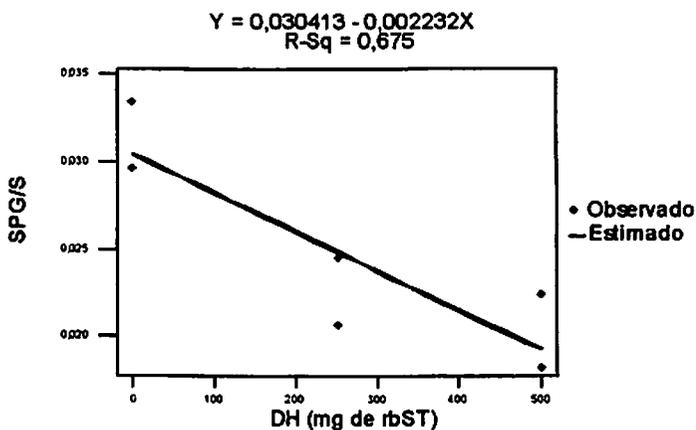


Figura 10: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 3, sobre a relação entre o número de espermetogônias e o número de células de Sertoli (SPG/S).

Não se observou influência da dosagem hormonal, da época de castração e da interação entre a época de castração e a dosagem hormonal ($P > 0,05$) na relação entre o número de espermatócitos na fase de pré-leptóteno e o número de células de Sertoli.

Na relação entre o número de espermatócitos na fase de paquíteno e o número de células de Sertoli, observou-se efeito quadrático das dosagens hormonais nas épocas de castração 2 e 3 (Figuras 11 e 12).

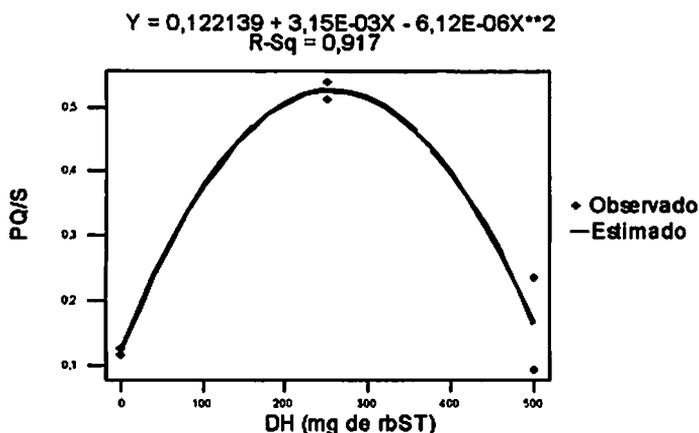


Figura 11: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 2, sobre a relação entre o número de espermatozóides na fase de paquíteno e o número de células de Sertoli (PQ/S).

Na época de castração 2, foi observado efeito quadrático (Figura 11) da dosagem hormonal, na relação PQ/S que atingiu um máximo de 0,526243 na dosagem hormonal de 256,9mg de rbST e, a partir dessa dosagem, esta relação começou a diminuir.

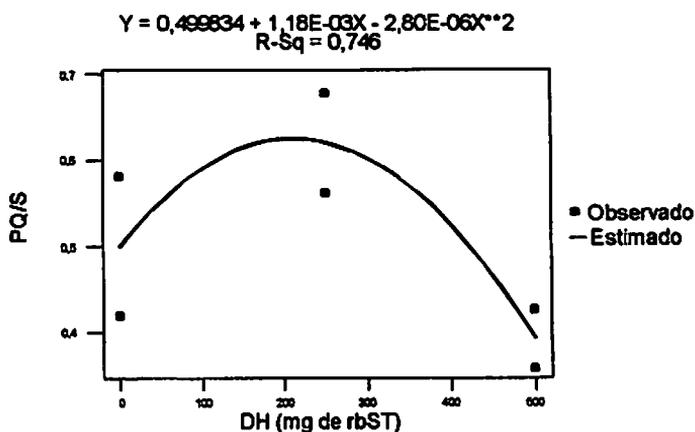


Figura 12: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 3, sobre a relação entre o número de espermatozóides na fase de paquíteno e o número de células de Sertoli (PQ/S).

A relação PQ/S, na época de castração 3, sofreu efeito quadrático (Figura 12) da dosagem hormonal, aumentando até um máximo de 0,625166 na dosagem de 211,5mg de rbST, e após essa dosagem houve uma queda gradativa.

Da mesma forma que ocorreu para a relação PQ/S, a relação entre o número de espermátides arredondadas e o número de células de Sertoli apresentou efeito quadrático nas épocas de castração 2 e 3 (Figuras 13 e 14).

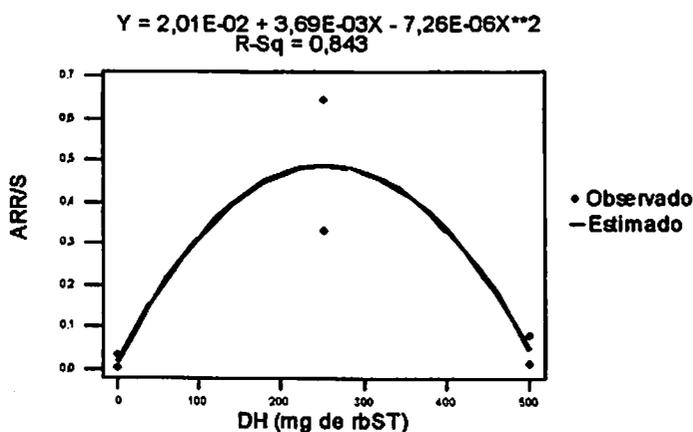


Figura 13: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 2, sobre a relação entre o número de espermátides arredondadas e o número de células de Sertoli (ARR/S).

A relação ARR/S, na época de castração 2, sofreu efeito quadrático da dosagem hormonal e aumentou até a dosagem de 254mg de rbST, atingindo um máximo de 0,488355, vindo a diminuir a partir dessa dosagem.

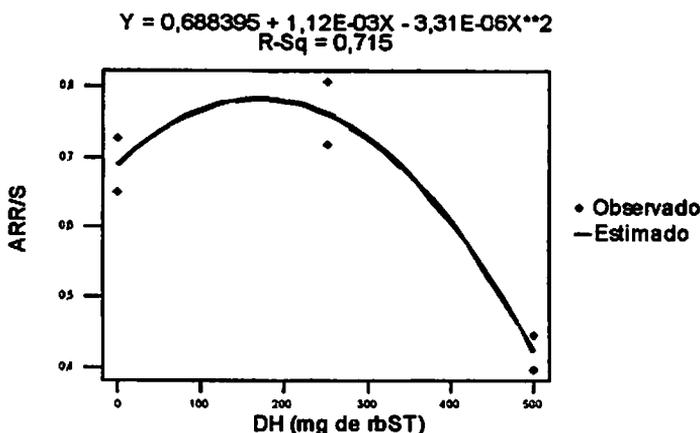


Figura 14: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 3, sobre a relação entre o número de espermátides arredondadas e o número de células de Sertoli (ARR/S).

Para a relação ARR/S, na época de castração 3, houve, igualmente, efeito quadrático da dosagem hormonal, aumentando a relação até a dosagem de 169,4mg de rbST, atingindo valor máximo de 0,783531.

Através dos dados obtidos nas análises de regressão, para as relações entre o número de células germinativas e o número de células de Sertoli, pode-se esperar que o rbST tenha uma dosagem máxima de ação sobre as células germinativas, a partir da qual essa ação decresce. As menores relações entre o número de células germinativas e o número de células de Sertoli, na dosagem de 500mg confirmaram a menor altura de epitélio encontrada para os animais deste mesmo grupo, pois esta característica é amplamente influenciada por estas relações.

O fato de somente os espermatócitos jovens não serem influenciados pela dosagem hormonal pode ser explicado pela fase pré-púbere em que se encontravam os animais, pois nesta fase eles ainda não apresentam o ciclo do epitélio seminífero definido.

Quanto à relação entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatogônias, houve efeito da dosagem hormonal nas épocas de castração 2 e 3 (Figuras 15 e 16).

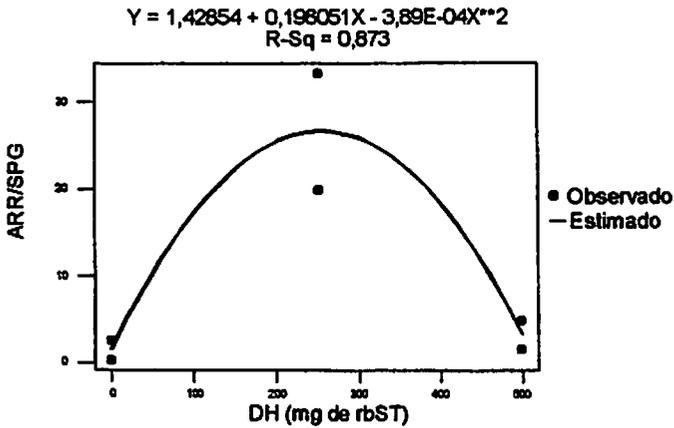


Figura 15: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 2, sobre a relação entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatogônias (ARR/SPG).

Observou-se efeito quadrático da dosagem hormonal sobre a relação ARR/SPG, a qual atingiu um máximo de 26,64 na dosagem hormonal de 254,6mg de rbST.

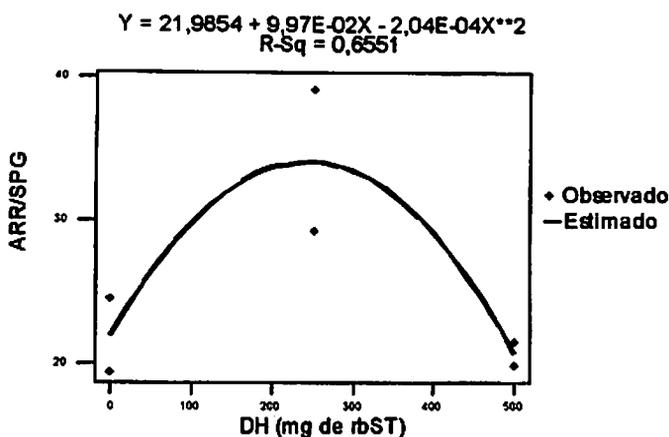


Figura 16: Efeito da dosagem hormonal, na época de castração 3, sobre a relação entre o número de espermátides arredondadas e o número de espermatogônias (ARR/SPG).

Na época de castração 3, foi observado efeito quadrático da dosagem hormonal sobre a relação ARR/SPG, que atingiu um máximo de 34,18 na dosagem de 244,5mg de rbST.

Estudos do efeito do GH sobre espermatogênese são poucos e, portanto, a determinação da dosagem e do protocolo de aplicação ainda são arbitrários. O protocolo de tratamento utilizado neste experimento corresponde ao mesmo recomendado para vacas leiteiras. As dosagens utilizadas neste experimento foram maiores que aquelas utilizadas por MacDonald & Deaver (1993) que não registraram diferenças em algumas variáveis do desenvolvimento sexual.

Os resultados obtidos em outras espécies são inconsistentes. Ohyama *et al.* (1995) mostraram que, em ratos pré-púberes, ocorreu um aumento da resposta testicular à testosterona em animais tratados com GH e Swanlund *et al.* (1995) mostraram que, em suínos pré-púberes, tratados com GH ocorreu maturação de células tubulares e de Sertoli.

O tratamento com as dosagens hormonais, a cada 14 dias, utilizado nesse experimento corresponde, segundo Cardoso (1981), com a duração do

ciclo do epitélio seminífero de touros zebus (Bos taurus indicus). Desse modo, espera-se que todas as células germinativas tenham sido submetidas à influência do rbST, durante o processo de espermatogênese.

5) CONCLUSÕES

A administração de rbST, em novilhos de corte, exerceu efeito positivo sobre o ganho de peso, ganho de peso médio diário e, também, sobre a circunferência escrotal de modo dose-dependente.

Não houve evidência experimental que permitisse afirmar que a dosagem hormonal tenha influenciado as características físicas e morfológicas do sêmen.

Houve influência do tratamento com rbST sobre a altura do epitélio e os animais tratados com 250mg de rbST mostraram altura de epitélio superior em relação aos demais tratamentos.

O rbST teve influência sobre as células germinativas, mas devem ser desenvolvidos mais estudos sobre esses efeitos para a determinação de um protocolo adequado de tratamentos.

6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, M. The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty. *Acta Endocrinologica*, Copenhagen, v.34, n.49, p.1-100, 1960. Suppl.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. *Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist*, 15.ed. Washington, 1990. v.1, 684p.

BARTLETT, J. M. S.; CHARLTON, H. M.; ROBINSON, I. C. A. F.; NIESCHLAG, E. Pubertal development and testicular function in the male growth hormone-deficient rat. *Journal of Endocrinology*, Bristol, v.126, n. 2, p. 193-202, Feb. 1990.

BARNES, M. A.; KASMER, G. W.; AKERS, M. A.; PEARSON, R. E. Influence of selection for milk yield on endogenous hormones and metabolites in Holstein heifers and cows. *Journal of Animal Science*, Champagn, v. 60, n.1, p.271-276, Jan. 1985.

BAUMRUCKER, C. R.; HADSELL, D. L.; BLUM, J. W. Effects of dietary Insulin-Like Growth Factor I on growth and Insulin-Like Growth Factor receptors in neonatal calf intestine. *Journal of Animal Science*, Champagn, v.72, p.428-433, Feb. 1994.

BILASPURI, G. S.; GURAYA, S. S. Quantitative studies on spermatogenesis in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Reproductive Nutrition Development*, Paris, v.20, n.4A, p.975-982, 1980.

BOIN, C.; TEDESCHI, L. O. Sistemas intensivos de produção de carne bovina: II. Crescimento e acabamento. In: *Simpósio SOBRE PECUÁRIA DE CORTE - PRODUÇÃO DO NOVILHO DE CORTE*, 4, 1997, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1997, p.205-227.

BREIER, B. H.; BASS, J. J.; BUTLER, J. H.; GLUCKMAN, P. D. The somatotrophic axis in young steers: influence of nutritional status on pulsatile release of growth hormone and circulating concentrations on insulin-like growth factor-I. *Journal of Endocrinology, Bristol*, v.111, n.2, p.209-215, Nov. 1986.

BREIER, B. H.; GLUCKMAN, P. D.; BASS, J. J. Influence of nutritional status and oestradiol-17 β on plasma growth hormone, insulin-like growth factor-I and -II and the response to exogenous growth hormone in young steers. *Journal of Endocrinology, Bristol*, v.118, n.2, p.243-250, Nov. 1988.

BREIER, B. H.; GLUCKMAN, P. D. The regulation of postnatal growth: nutritional influences on endocrine pathways and function of the somatotrophic axis. *Livestock Production Science, Amsterdam*, v.27, n.1, p.77, 1991.

BREIER, B. H.; FUNK, B.; AMBLER, G. R.; SURUS, A.; WATERS, M. J.; GLUCKMAN, P. D. Characterization of ovine growth hormone(oGH) and ovine placental lactogen (oPL) binding to fetal and adult hepatic tissue in the sheep: evidence that oGH and oPL interact with a common receptor. *Endocrinology, Baltimore*, v.135, n.2, p.919-928, 1994.

BREIER, B. H.; SAUERWEIN, H. Regulation of growth in ruminants by the somatotrophic axis. *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANTS PHYSIOLOGY, 8, 1995, Germany. *Proceedings...* Germany, 1995.

BURTON, J. L.; McBRIDE, B. W.; BLOCK, E.; GLIMM, D.R.; KENNELLY, J. J. A review of bovine growth hormone. *Canadian Journal Animal Science, Ottawa*, v.74, n.2, p.167-201. June. 1994.

CARDOSO, F. M. *Morfologia, cinética e quantificação da espermatogênese em zebus (Bos indicus)*. 1981. 202p. Tese (Doutorado em Morfologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

- CASTRO, A. C. S.; BERNDTSON, W. E.; CARDOSO, F. M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e sua aplicação em estudos da reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 21, n.1, p.25-34. 1997.
- CLERMONT, Y.; MORGENTALER, H. Quantitative study of spermatogenesis in the hypophysectomized rat. **Endocrinology**, Batimore, v. 57, n.1, p.369-382. 1955.
- CROOKER, B. A.; McGUIRE, M. A.; COHICK, W. S.; HARKINS, M.; BAUMAN, D. E.; SEJRSEN, K. Effect of dose of bovine somatotropin on nutrient utilization in growing dairy heifers. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.120, n.10, p.1256-1263, Oct. 1990.
- DALKE, B. S., ROEDER, R. A., KASSER, T. R., VEENHUIZEN, J. J., HUNT, C. W., HINMAN, D. D.; SCHELLING, G. T. Dose-response effects of recombinant bovine somatotropin implants on feedlot performance steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, n.7, p. 2130-2137, July. 1992.
- DANA, S.; KARIN, M. Induction of human growth hormone promoter activity by the adenosine 3', 5'- monophosphate pathway involves a novel responsive element. **Molecular Endocrinology**, Bethesda, v.3, p.815, 1989.
- DAVIS, S. L.; GRAF, M.; MORRISON, C. A.; HALL, T. R.; SWIFT, P. S. Identification and partial purification of serum growth hormone binding protein in domestic animal species. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, n.3, p.773-780, Mar. 1992.
- DAVIS, M. E.; SIMMEN, R. C. M. Genetic parameter estimates for serum insulin-like growth factor I concentration and performance traits in angus beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, n.2, p.317-325, Feb. 1997.
- DEAVER, D. R.; BRYAN, K. A. Effects of exogenous somatotropin (ST) on gonadal function in ruminants and swine. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v.17, n. 2/3, p.287-297, Oct. 1999.

- EARLY, R. J., McBRIDE, B. W., BALL, R. O. Growth and metabolism in somatotropin-treated steers: I. Growth, serum chemistry and carcass weights. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n.12, p. 4134-4143. Dec. 1990a.
- EARLY, R. J., McBRIDE, B. W., BALL, R. O. Growth and metabolism in somatotropin-treated steers: II. Carcass and noncarcass tissue components and chemical composition. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n.12, p. 4144-4152. Dec. 1990b.
- EISEMANN, J. H.; HAMMOND, A. C.; RUMSEY, T. S. Tissue protein synthesis and nucleic acid concentrations in steers treated with somatotropin. **Brazilian Journal of Nutrition**. v.62, p.657-671, 1989.
- ENRIGHT, W. J.; QUIRKE, J. F.; GLUCKMAN, P. D.; BREIER, B. H.; KENNEDY, L.G.; HART, I. C.; ROCHE, J. F.; COERT, A.; ALLEN, P. Effects of long-term administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.8, p.2345-2356, Aug. 1990.
- FIELDS, M. J.; HENTGES JR., J. F.; CORNELISSE, K. W. Aspects of the sexual development of Brahman versus Angus bulls in Florida. **Theriogenology**, Stoneham, v.18, n.1, p.17-32, Jan. 1982.
- FONSECA, V. O. Puberdade, adolescência e maturidade sexual: aspectos histopatológicos e comportamentais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1989, p.77-93.
- FRICK, G. P.; LEONARD, J. L.; GOODMAN, H. M. Effect of hypophysectomy on growth hormone receptor gene expression in rat tissues. **Endocrinology**, Baltimore, v.128, n.2, p.657-659, 1990.
- FURLAN, R. L. Efeito do hormônio do crescimento bovino recombinante (rbST) sobre o desempenho e expressão gênica do IGF-I, do hormônio de crescimento e seu receptor em bovinos de corte. Tese (Doutorado em

Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal - SP.

GRAVANCE, , C. G.; BREIER, B. H.; VICKERS, M. H.; CASEY, P. J. Impaired sperm characteristics in postpubertal growth-hormone-deficient dwarf (dw/dw) rams. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 71-76, Sept. 1997.

HARVEY, S.; SCANES, C. G.; DAUGHADAY, W. H. **Growth Hormone**. CRC Press: Florida, 1995. 523p.

HOUSEKNECHT, K. L.; BAUMAN, D. E.; FOX, D. G.; SMITH, D. F. Abomasal infusion of casein enhances nitrogen retention in somatotropin-treated steers. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.122, n.8, p.1717-1725, Aug. 1992.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Malha municipal digital do Brasil**. 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cadastro de cidades e vilas do Brasil**. 1999.

JAILLARD, C.; CHATELAIN, P. G.; SAEZ, J. M. In vitro regulation of Pig Sertoli cell growth and function: effects of fibroblast growth factor and somatomedin-C. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.37, n. 3, p.665-674, Oct. 1987.

LeGAC, F.; LOIR, M.; LeBAIL, P.; OLLITRAULT, M. Insulin-like growth factor (IGF-I) mRNA and IGF-I receptor in trout testis and in isolated spermatogenic and sertoli cells. **Molecular Reproduction and Development** New York, v. 44, n.1, p.23-35, Jan. 1996.

LIN, T.; HASKELL, J.; VINSON, N.; TERRACIO, L. Characterization of insulin-like growth factor I receptors of purified Leydig cells and their role in steroidogenesis in primary culture: a comparative study. **Endocrinology**, Baltimore, v.119, n.4, p.1641-1647, Oct. 1986.

- LITTLE, R. C.; MILLIKEN, G. A.; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R. D. (eds). **SAS system for mixed models**. Cary, NC:SAS Institute, 1996. 633p.
- LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.
- LUNSTRA, D. D.; FORD, J. J.; ECHTERNKAMP, S. E. Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual agressivness in bulls of different breeds. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.46, n.4, p.1054-1062, Apr. 1978.
- Mc DONALD, R. D.; DEEVER, D. R. Testicular development in bulls treated with recombinant bovine somatotropin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.6, p.1540-1545, June. 1993.
- Mc SHANE, T. M.; SCHILLO, K. K.; BOLING, J. A.; BRADLEY, N. W.; HALL, J. B. Effects of recombinant DNA-derived somatotropin and dietary energy intake on development of beef heifers: I. Growth and puberty. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, n.9, p.2230-2236, Sept. 1989.
- MELO, M. I. V. **Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade**. 1991. 66p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais – MG.
- MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academy Press, 1990. 408p.
- MOSELEY, W. M., PAULISSEN, J. B., GOODWIN, M. C., ALANIZ, G. R., CLAFLIN, W. H. Recombinant bovine somatotropin improves growth performance in finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n.2, p. 412-425. Feb. 1992.
- OHYAMA, K.; OHTA, M.; NAKAGOMI, Y.; YAMORI, T.; SANO, T.; SHIMURA, Y.; SATO, K.; NAKAZAWA, S. Effects of growth hormone and

- insulin-like growth factor I on testosterone secretion in premature male rats. *Endocrinology*, Baltimore, v.142, n.2, p.817-820, 1995.
- PAULINO, M. F. . Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: **SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE**. 1999. Viçosa. **Anais... Viçosa: DUT/DZO/EJZ/UFV**, 1999, p.137-156.
- PEEL, J.M.; BATES, P. C. The nutritional regulation of growth hormone action. *Nutrition Research Reviews*, Cambridge, v.3, p.163-170, 1990.
- PIMENTEL, C. A. Desenvolvimento testicular e corporal em touros de corte. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. v.8, n.1, p. 27-33, 1984.
- PRESTON, T. R. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 54, n.4, p. 877-883, Apr. 1982.
- RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SINHAHIKIM, A. P. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Clearwater: Cache River Press, 1990. p.41-58.
- SANTOS, R. L.; SILVA, C. M.; RIBEIRO, A. F. C.; VASCONCELOS, A. C.; PESQUERO, J. L.; COELHO, S. G.; SERAKIDES, R.; REIS, S. R. Effect of growth hormone and induced IGF-I release on germ cell population and apoptosis in the bovine testis. *Theriogenology*, Stoneham, v.51, n.5, p.975-984, Apr. 1999.
- SAS Institute. **SAS/STAT User's guide**. Version 6.12. 4.ed. Cary, 1995. V.2, 1686p.
- SCHIMIDT - HEBBEL, J. M. **Desenvolvimento reprodutivo e alterações do peso corporal em touros jovens de raças zebuínas e européias**. 1997. 117p. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal- SP**.
- STEWART, C. H.; BATES, D. C.; CALDER, T. A.; WOODALL, S.; PEEL, J. M. Potentiation of insulin-like growth factor (IGF-I) activity by an antibody:

supportive evidence for enhancement of IGF-I bioavailability in vivo by IGF-I binding proteins. *Endocrinology*, Baltimore, v.133, n.4, p.1462-1465, 1993.

SUZUKI JÚNIOR, J. Identificação de polimorfismos do gene do hormônio de crescimento associados às características produtivas e aos níveis plasmáticos de IGF-I de bovino de corte. 2001. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal- SP.

SWANLUND, D. J., N'DIAYE, M. R., LOSETH, K. J., PRYOR, J. L. CRABO, B. B. Diverse testicular responses to exogenous growth hormone and follicle-stimulating hormone in prepubertal boars. *Biology of Reproduction*, Champaign, v. 53, n. 4, p. 749-757. Oct. 1995.

TROCÓNIZ, J. F. Testicular development, body weight changes, puberty and semen traits of growing Guzerat and Nellore bulls. *Theriogenology*, Stoneham, v.35, n.4, p.815-826, Apr. 1991.

VIEIRA, R. C.; ALENCAR, M. M.; ESTEVES, S. N. Características puberais de tourinhos Canchim suplementados na seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22, 1985. Camboriú. Anais... Camboriú: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1985a p.412.

