



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DISCIPLINA DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO**

REPRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO

Samanta Regine Fensterseifer

**Pelotas, RS, Brasil
2012**

Relatório apresentado à disciplina de Estágio Curricular Supervisionado do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para a obtenção do título de Médico Veterinário.

Orientador acadêmico: Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa

Acadêmico: Samanta Regine Fensterseifer

Orientador de estágio: Prof. Dr. Scott Lake

**Local de estágio: Department of Animal Science – University of Wyoming,
Laramie, Wyoming, USA**

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por sempre iluminar o meu caminho e por me conceder oportunidades maravilhosas em minha vida.

Agradeço também a minha família, especialmente aos meus pais Roni Volnei Fensterseifer e Solange Fabrin Fensterseifer, por me darem a educação, o carinho e o apoio necessário em todos os momentos, por serem meu porto seguro sempre que precisei e por se esforçarem para sustentar este meu grande sonho de me tornar uma Médica Veterinária.

Aos grandes amigos de Teutônia, que mesmo longe sempre estiveram presentes em meus momentos.

Aos amigos que conquistei em Pelotas, por todos os momentos vividos juntos, de alegrias, de tristezas, conquistas, risos e lágrimas.

À todos os professores pela paciência e boa vontade de nos ensinar um pouco daquilo que sabem tanto, que fará grande diferença em nosso futuro profissional.

Ao Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) por me acolher durante quatro anos do meu curso, possibilitando o convívio e trabalho em grupo e o significado de uma equipe.

Ao meu orientador acadêmico, Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa, pelos seus conselhos e suas oportunidades de aprendizado, de desenvolvimento de habilidades e de crescimento profissional e pessoal.

Ao meu orientador de campo, Prof. Dr. Scott Lake pela amizade, pelos ensinamentos e oportunidades durante o período de estágio.

Aos demais professores e funcionários do Department of Animal Science da University of Wyoming, Dr. Douglas Hixon, Dr. Allison Meyer, Dr. Kristi Cammack, Kathy Austin, Cody Molle, Ed VanKrik, pela paciência que tiveram comigo, principalmente em relação ao diferente idioma e diferenças de culturas e pelo aprendizado. À todos os amigos que conquistei em Laramie, pelo apoio dado quando a saudade de casa batia mais forte.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida através do Programa Ciência sem Fronteiras (modalidade graduação sanduíche) que possibilitou a realização deste estágio.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMO.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. LARAMIE – WYOMING.....	9
2.1. University of Wyoming.....	10
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	13
3.1. Atividades Práticas.....	13
3.1.1. Campo	13
3.1.2. Laboratório.....	15
3.1.2.1. Laboratório de Biologia Reprodutiva	16
3.1.2.1.1. Western blot.....	16
3.1.2.1.2. Método para a síntese de DNA complementar (cDNA)	22
3.1.2.1.3. Real Time PCR.....	22
3.1.2.2. Laboratório de Nutrição de Ruminantes	24
3.2. Atividades Didáticas.....	25
3.2.1. Acompanhamento de Disciplinas.....	25
3.2.2. Journal Club.....	25
3.2.3. Seminários	26
4. EXPECTATIVA X REALIDADE.....	27
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXOS	31
ANEXO I – Registro de atividades	32
ANEXO II – Relatório parcial.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades de campo realizadas durante a disciplina de Estágio Curricular Supervisionado, no período de 24 de agosto à 13 de novembro de 2012.	14
Tabela 2. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação de Buffer IX Laemmli.....	17
Tabela 3. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação de Electrophoresis Buffer.	18
Tabela 4. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação de Stacking Gel.	18
Tabela 5. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação do Mix para Real Time PCR.....	23
Tabela 6. Atividades de campo realizadas durante o período de 24 de agosto à 03 de outubro de 2012 na disciplina de Estágio Curricular Supervisionado.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do estado de Wyoming, EUA.	9
Figura 2. Localização da cidade de Laramie no estado de Wyoming, EUA.	9
Figura 3. Vista aérea da área principal do campus da University of Wyoming, Laramie – Wyoming.	11
Figura 4. Vista do prédio do Department of Animal Science da University of Wyoming.	11
Figura 5. Laboratório de Biologia Reprodutiva – Department of Animal Science, University of Wyoming.	12
Figura 6. Laboratório de Biologia Reprodutiva – Department of Animal Science, University of Wyoming.	12
Figura 7. Resumo em percentagens das atividades práticas de campo realizadas durante a disciplina de Estágio Curricular Supervisionado.	13
Figura 8. Diagnóstico de gestação através do uso de ultrassonografia.	14
Figura 9. Coletas de sangue realizadas por meio de punção da veia jugular em terneiros de experimento do Department of Animal Science.	15
Figura 10. Concentrador utilizado na preparação das amostras para análise de Western Blot.	17
Figura 11. Placa contendo gel de poliacrilamida 12,5% (A) e pente utilizado para formação dos poços para a colocação das amostras (B).	19
Figura 12. Processo de eletroforese em gel finalizado (A) e placas contendo uma fina espuma e filtro de papel para proteger o gel e a membrana de nitrocelulose durante o processo de transferência (B).	20
Figura 13. Lavagens realizadas após a incubação das membranas com anticorpo primário (A) e colocação da diluição contendo o anticorpo secundário (B).	21
Figura 14. Membranas sendo embrulhadas em papel filme após removido o excesso de reagente em filtro de papel.	21
Figure 15. Único pico na curva de melting gerada pelo software do termociclador de real time PCR, indicando a qualidade da reação.	24

RESUMO

Fensterseifer, Samanta Regine. **Nutrição e Reprodução de Bovinos de Corte**. 2012. 30 f. Relatório de Estágio Curricular Supervisionado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

O Estágio Curricular Supervisionado foi realizado sob a orientação do Professor Dr. Scott Lake, junto ao Department of Animal Science da University of Wyoming, na cidade de Laramie, estado de Wyoming – EUA. O mesmo ocorreu durante o período de 24 de agosto a 13 de novembro de 2012, totalizando 464 horas, na área de reprodução e nutrição com ênfase em bovinocultura de corte. As atividades realizadas durante o período de estágio foram divididas em práticas – de campo e laboratoriais – e teóricas, como o acompanhamento de aulas, grupos de discussões e seminários. O estágio teve por objetivo a obtenção do conhecimento na área acompanhada, bem como crescimento, amadurecimento pessoal e desenvolvimento de habilidades.

Palavras-chave: Análises laboratoriais, Manejo nutricional, Reprodução de bovinos.

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de carne apresenta grandes tendências de crescimento para os próximos anos, pois o número de consumidores está aumentando, bem como o poder aquisitivo da população e, aliado à isso, a qualidade de vida, sendo uma alimentação correta e saudável um dos importantes fatores levado em consideração (ERGOMIX, 2009).

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2012) os Estados Unidos da América (EUA) é atualmente o maior produtor de carne bovina do mundo, com 12 milhões de toneladas (equivalente ao peso de carcaça) produzidos no ano de 2011. Já o Brasil ocupa o segundo lugar, com 9 milhões de toneladas produzidos em 2011 (USDA, 2012). Ambos os países apresentam perspectivas de aumento da produção, sendo estimado um crescimento de 38,2% da produção brasileira e 11,1% da produção americana até o ano de 2015 (ERGOMIX, 2009).

Porém, para que esse crescimento venha a ocorrer é necessário otimizar o sistema produtivo, obtendo maior produção com menor gasto e período de tempo. Diante disso, várias estratégias vêm sendo utilizadas, como manejos de estação de monta, que permitem a concentração de partos, a adoção de técnicas reprodutivas (inseminação artificial, transferência de embriões) que permitem a introdução de genética reconhecida no rebanho, além da implantação de protocolos de sincronização de estro, que permitem uma otimização do manejo reprodutivo e redução de custos com mão-de-obra. Todas estas estratégias aliadas à uma boa nutrição e sanidade são ferramentas chave para bons resultados nos sistemas de produção.

Com esta finalidade, o uso de tecnologias reprodutivas vem sendo empregado ao longo dos anos nas fazendas produtoras de gado de corte dos EUA. Segundo dados do USDA em um estudo realizado em 1997 pelo Sistema Nacional de Monitoramento em Saúde Animal (The National Animal Health Monitoring System – NAHMS), apenas 13% das propriedades entrevistadas já tinham utilizado inseminação artificial, 11,9% sincronização de estro e 34,5% diagnóstico de gestação através de palpação retal. O estudo foi desenhado para compreender 85% de todas as vacas de corte dos EUA (DEE WHITTIER, 2010).

É válido considerar que propriedades com rebanhos maiores (300 vacas) visam maior utilização das tecnologias reprodutivas do que as que possuem

rebanhos menores (<100 vacas) (DEE WHITTIER, 2010), o que é favorável, visto que a maioria das propriedades produtoras de bovinos de corte dos EUA possui de 200 a 999 animais (25% aproximadamente). Em menor número (cerca de 13%) estão as fazendas com 50 a 199 animais, 6% propriedades com menos de 50 animais (USDA, 2007).

Argumentos utilizados na época do estudo pelos produtores para justificar a não utilização destas tecnologias eram de que não traziam bons resultados, apresentavam custos excessivos, além de necessitar instalações adequadas para a realização dos manejos (DEE WHITTIER, 2010).

Atualmente o contexto vem mudando, os preços estão se tornando mais acessíveis e o ganho com a utilização destas técnicas vem sendo valorizado. Um exemplo disso é o crescimento do volume de vendas de sêmen para gado de corte nos EUA, que em 2011 totalizou 3.795.398 doses, cerca 2,9% de aumento em relação ao ano de 2010 (3.687.096 doses) e aproximadamente 31,5% a mais do que em 1997, ano em que foi realizada a pesquisa (NAAB, 2012).

Visualizando este cenário de crescimento de produção anual, tem-se o setor de pecuária, em especial a bovinocultura de corte como uma área promissora, de muitas oportunidades no mercado de trabalho. Com este propósito, a realização de estágios com reprodução e nutrição, tanto na área de campo como laboratorial é de grande valia e uma ótima oportunidade para acrescentar conhecimento prático aos estudantes e futuros Médicos Veterinários.

O presente relatório tem por finalidade descrever as atividades realizadas durante o Estágio Curricular Supervisionado correspondente ao décimo semestre do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. O mesmo teve como objetivo aprimorar os conhecimentos teóricos aprendidos durante a graduação, bem como a obtenção de experiências práticas, além de aprender como agir diante das realidades encontradas diariamente e adquirir maturidade e crescimento pessoal e profissional.

O Estágio Curricular Supervisionado foi realizado junto ao Department of Animal Science – University of Wyoming, no estado de Wyoming/EUA, sob a orientação do Prof. Dr. Scott Lake, durante o período de 24 de agosto a 13 de novembro de 2012, totalizando 464 horas.

2. LARAMIE – WYOMING

Wyoming é o 10º maior estado dos EUA (Figura 1) e o menos populoso. A cidade de Laramie está localizada no sudeste do estado de Wyoming, próximo ao Rio de Laramie, a cerca de 50 milhas a oeste de Cheyenne (Figura 2), capital do estado (Wyoming – Wikipedia, 2012; Sobre Laramie - Laramie.com, 2012). Esta, por sua vez, é a cidade mais populosa, e Laramie ocupa o terceiro lugar, com 30.816 mil habitantes (Censo 2010). Laramie também é sede do Condado de Albany, um dos 23 Condados do estado de Wyoming (Censo 2010; Laramie - Wikipedia, 2012).



Figura 1. Localização do estado de Wyoming, EUA.



Figura 2. Localização da cidade de Laramie no estado de Wyoming, EUA.

A cidade, fundada na década de 1860, leva o nome de um caçador Francês ou Franco-Canadense, Jacques LaRamie, que desapareceu em 1810 nas montanhas de Laramie (História de Laramie - Laramie.com, 2012).

A área ocupada pela cidade é de 46 km², sendo 45,95 km² de terra e 0,05 km² de água (Laramie - Wikipedia, 2012). O clima é semi-árido devido à elevação (7,165 pés - 2184 metros), sendo que os invernos são longos, frios e secos e os verões quentes, úmidos e curtos. A temperatura média no inverno (janeiro) é de -6°C, correspondentes à 21°F e no verão (julho) é de 18°C (64°F). A média anual de queda de neve é de 107 cm (Laramie - Wikipedia, 2012).

Com relação à economia, aproximadamente 86% das receitas agrícolas de Wyoming são gerados por produtos oriundos da pecuária, destacando-se a bovinocultura de corte (76% do total), que de longe é a fonte mais importante de receita no estado e no setor pecuário, o que faz Wyoming ser considerado o estado do gado (Economy of Wyoming – NetState Wyoming, 2012).

Além da pecuária de corte, destaca-se ainda a produção de feno (cultura mais produzida), beterraba, suínos, e ovinos, sendo um dos principais estados produtores de ovelhas e lã. Outra fonte de economia forte em Wyoming é a mineração, que compreende a maior proporção do produto bruto comparado aos outros estados americanos. Wyoming é o estado líder em produção de carvão, petróleo e gás natural (Economy of Wyoming – NetState Wyoming, 2012).

Sendo casa da University of Wyoming, Laramie possui uma economia basicamente voltada para serviços relacionados à educação, saúde e serviços sociais (Economia de Laramie, 2012).

2.1. University of Wyoming

A University of Wyoming foi fundada no ano de 1886, porém somente em setembro de 1887 iniciou as suas atividades, com 42 alunos e 5 membros docentes, dentre eles, homens e mulheres.

O primeiro prédio foi construído no parque da cidade de Laramie para a realização das aulas, seguido da biblioteca e dos prédios administrativos (University of Wyoming History, 2012).

Atualmente a University of Wyoming conta com 13.992 alunos (UW News Home, 2012) e 700 membros docentes (University of Wyoming History, 2012). É composta por sete faculdades: agricultura e recursos naturais, artes e ciências,

negócios, educação, engenharia e ciências aplicadas, ciências da saúde e direito, e oferece mais de 190 programas de pós-graduação e graduação (University of Wyoming – Wikipedia, 2012). Na figura 3 podem ser visualizados os prédios que compõem a área principal do campus da University of Wyoming.



Figura 3. Vista aérea da área principal do campus da University of Wyoming, Laramie – Wyoming.

O Departamento de Animal Science era composto por 210 estudantes de graduação, 18 estudantes de pós-graduação, 15 professores e 11 funcionários. O prédio localizava-se na esquina das ruas 16th e Gibbon (Figura 4), ao lado do prédio da Biologia Molecular, cerca de duas quadras de distância da área principal do campus.



Figura 4. Vista do prédio do Department of Animal Science da University of Wyoming.

O prédio era composto por duas salas de aula, escritórios dos professores e funcionários, salas de estudo dos alunos da pós-graduação, laboratório de informática, área de estar contendo sofás, cadeiras e mesas para discussões, reuniões e/ou estudo e 8 laboratórios (Figura 5 e 6).



Figura 5. Laboratório de Biologia Reprodutiva – Department of Animal Science, University of Wyoming.



Figura 6. Laboratório de Biologia Reprodutiva – Department of Animal Science, University of Wyoming.

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o período de Estágio Curricular Supervisionado foram realizadas atividades práticas, de campo e laboratório, e atividades didáticas, como acompanhamento de disciplinas como aluno ouvinte, encontros para discussão de artigos e participação em seminários do Department of Animal Science.

3.1. Atividades Práticas

3.1.1. Campo

As atividades de campo realizadas durante a disciplina de Estágio Curricular Supervisionado foram compostas, em sua maioria, por diagnósticos de gestação (48%), seguidos de manejo zootécnicos, como coletas de sangue (3%), pesagens (14%) e vacinações e vermifugações (35%) (Figura 7).

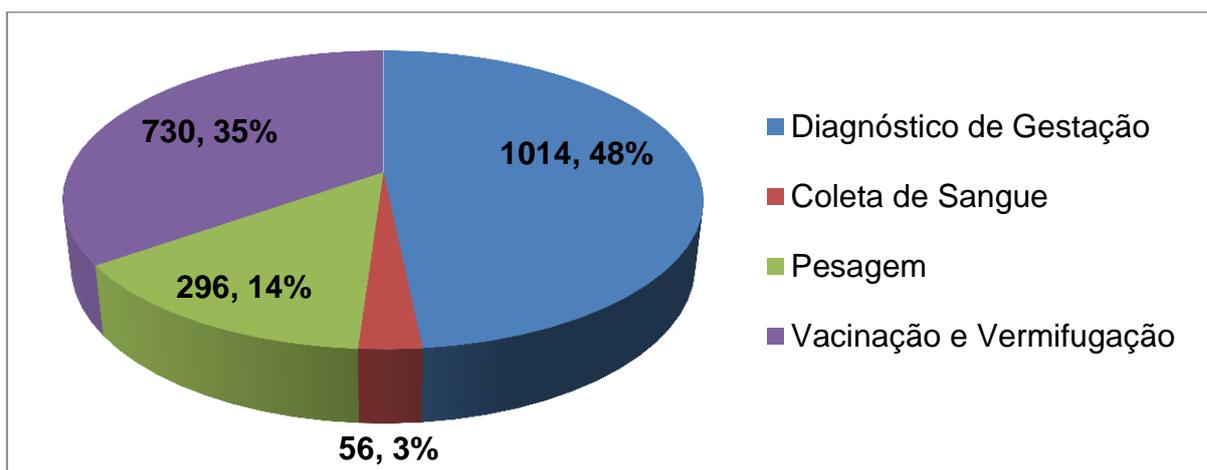


Figura 7. Resumo em percentagens das atividades práticas de campo realizadas durante a disciplina de Estágio Curricular Supervisionado.

Os diagnósticos de gestação eram realizados através de ultrassonografia¹, geralmente 60 dias após a retirada dos touros (Figura 8). As fêmeas prenhes eram vermifugadas e vacinadas (Tabela 1) e as fêmeas vazias eram separadas do lote e destinadas à venda.

A estação de monta no estado de Wyoming é geralmente iniciada nos meses de abril e maio até julho e agosto, considerando que a época de parição vai de fevereiro a maio, sendo realizados os diagnósticos de gestação nos meses de setembro, outubro e novembro.

¹ MicroMaxx Ultrasound System – Sonosite Inc., Bothell, Washington

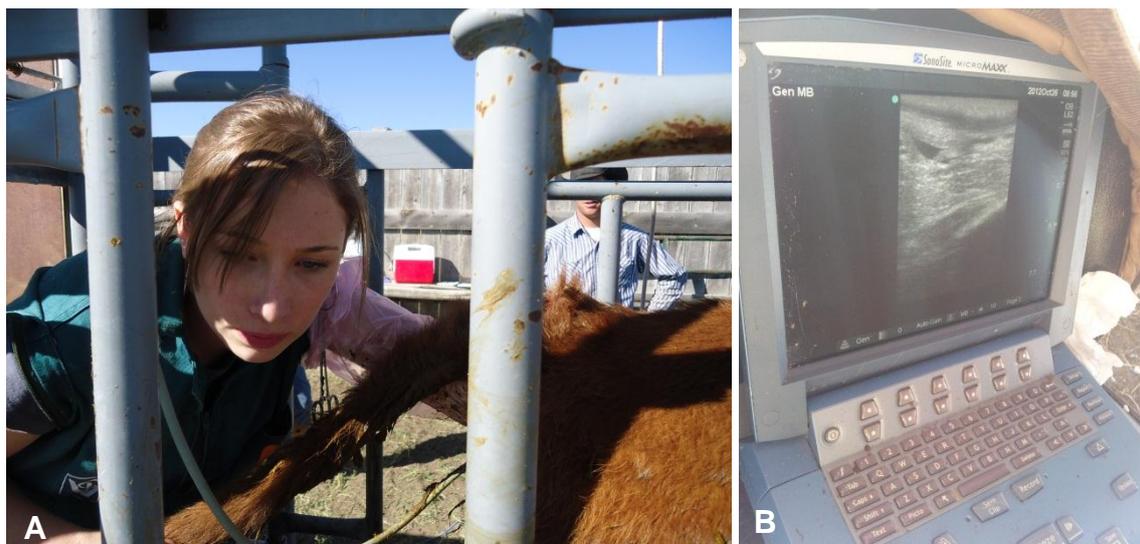


Figura 8. Diagnóstico de gestação através do uso de ultrassonografia.

Tabela 1. Atividades de campo realizadas durante a disciplina de Estágio Curricular Supervisionado, no período de 24 de agosto à de 13 e novembro de 2012.

Número de animais	Atividades
180	Diagnóstico de gestação
240	Desmame de terneiros – Pesagem + Aplicação de Dectomax ² + Vacinação (One Shot Ultra™ 8 ³ + CattleMaster GOLD FP 5 ⁴)
74	Diagnóstico de gestação
28	Coleta de sangue e pesagem terneiros (experimento)
240	Diagnóstico de gestação + Vacinação (240 - PregGuard GOLD FP 10 ⁵) e Aplicação de Dectomax ²
60	Diagnóstico de gestação
140	Diagnóstico de gestação
250	Diagnóstico de gestação + Vacinação (240 - PregGuard GOLD FP 10 ⁴) e Aplicação de Dectomax ²
28	Coleta de sangue e pesagem terneiros (experimento)
70	Diagnóstico de gestação

² DECTOMAX® - Pfizer Saúde Animal

³ One Shot Ultra™ 8® - Pfizer Saúde Animal

⁴ CattleMaster GOLD FP 5® - Pfizer Saúde Animal

⁵ 240 - PregGuard GOLD FP 10® - Pfizer Saúde Animal

O desmame dos terneiros geralmente ocorria próximo ao manejo de diagnóstico de gestação, com aproximadamente 6 a 8 meses de idade, onde os animais eram pesados, vacinados e vermifugados.

As coletas de sangue (Figura 9) foram realizadas em um experimento que estava sendo conduzido com terneiros de aproximadamente um ano de idade recebendo dietas contendo diferentes fontes lipídicas. Os animais permaneciam em uma fazenda experimental da Universidade, na cidade de Lingle, cerca de 200 km da cidade de Laramie. As coletas estavam sendo realizadas com um intervalo de 45 dias.



Figura 9. Coletas de sangue realizadas por meio de punção da veia jugular em terneiros de experimento do Department of Animal Science.

3.1.2. Laboratório

As atividades de laboratório iniciaram somente na terceira semana de estágio, após a realização de um treinamento de segurança laboratorial requisitado pela Universidade.

A maior parte das atividades foram realizadas no Laboratório de Biologia Reprodutiva, onde foram acompanhadas análises de Western Blot, Transcrição Reversa - Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR) e Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (Real Time PCR).

Na última semana de estágio foram acompanhadas análises bromatológicas no Laboratório de Nutrição de Ruminantes, com a avaliação do teor de matéria seca

(MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos utilizados em alguns experimentos que estavam sendo conduzidos por pós-graduandos do Department of Animal Science.

3.1.2.1. Laboratório de Biologia Reprodutiva

3.1.2.1.1. Western blot

O método de Western Blot é utilizado para quantificar proteínas em uma determinada amostra, que pode ser tecido biológico ou cultura de células. Deriva do mesmo método utilizado para quantificar ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), denominados Southern Blot e Northern Blot, respectivamente. A palavra “blot” deriva de “blotting”, que significa “borramento”, que ocorre durante a etapa de transferência, onde as proteínas migram do gel para uma membrana de nitrocelulose, de onde podem ser detectadas.

Todas as análises feitas durante o período de estágio foram realizadas com cultura de células, com os seguintes passos:

Preparação do Tecido:

Todas as amostras oriundas de experimentos com cultura de células chegavam como lisados celulares em Eppendorfs, com estimada concentração de proteína (valores gerados através de espectrofotometria). Estas amostras eram pipetadas em Eppendorfs na quantidade que correspondesse 40 µg de proteína. Na sequência, eram colocadas em um concentrador⁶ (Figura 10) por um período de vinte a trinta minutos onde o conteúdo líquido era evaporado através da ação de uma força centrífuga e vácuo, restando somente um pequeno pellet no fundo do Eppendorf. Esse processo fazia-se necessário, pois algumas amostras possuíam menor quantidade de proteína, sendo necessária maior quantidade de amostra para completar os 40 µg e cada poço da placa de gel onde as amostras eram colocadas comportava somente 40 µL.

Em seguida, eram acrescentados 20 µL de Buffer 1X Laemmli (Tabela 2) e as amostras eram deixadas em banho-maria por três minutos, em uma temperatura de 95,8°C. Após, as amostras eram centrifugadas por um minuto em uma velocidade de 12000 rpm.

⁶ SpeedVac® concentrator SVC100 – Thermo Savant (Fisher Scientific, Inc., Pittsburgh, PA).

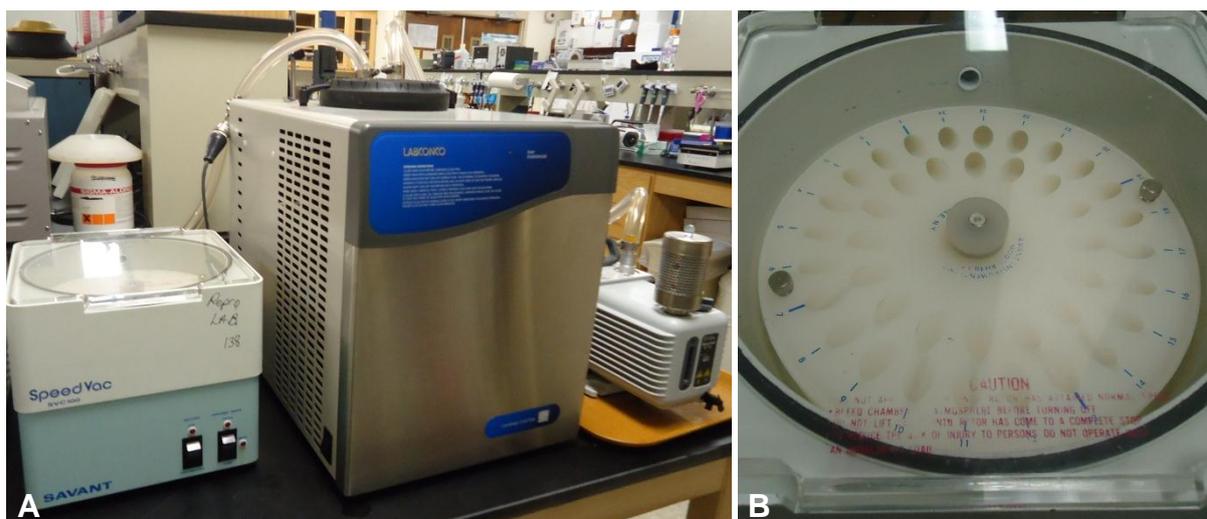


Figura 10. Concentrador utilizado na preparação das amostras para análise de Western Blot.

Tabela 2. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação de Buffer IX Laemmli.

Quantidade	Substância
0,76 g	Tris Base
10 mL	Glicerol
17 mL	Água Deionizada
Corrigir pH para 6.8	
2 g	SDS
0,001 g	Bromofenol azul
Acrescentar água deionizada até completar 100 mL	

Este procedimento era realizado com o intuito de desnaturar as proteínas, convertendo-as em uma estrutura linear e conferindo-lhes uma densidade de carga uniforme. Com isso, durante a eletroforese, a separação é somente realizada através da massa molecular (MENDES, 2012).

Eletroforese em gel:

Eletroforese em gel de poliacrilamida era realizada para a separação das proteínas de acordo com o seu peso molecular.

As placas contendo o gel de poliacrilamida 12,5% eram preparadas com alguns dias de antecedência e armazenadas em temperatura de 4°C (Figura 11A).

Cada cuba de eletroforese comportava duas placas de gel, que eram dispostas no sentido vertical.

Durante o tempo em que as amostras permaneciam no concentrador, a cuba era montada e completada com Tampão de eletroforese (Tabela 3). Em seguida era preparado o gel de empilhamento (Tabela 4) para preencher o espaço vazio na placa de gel, onde era então colocado o pente para a formação dos poços (Figura 11B) para colocação das amostras.

Tabela 3. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação de Tampão de eletroforese.

Quantidade	Substância
3 g	Tris base
14,4 g	Glicina
1 g	SDS
Acrescentar água deionizada até completar um litro	

Tabela 4. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação de gel de empilhamento.

Quantidade	Substância
5,6 mL	Água deionizada (Milli-Q)
2 mL	Tampão de empilhamento
2,4 mL	Solução 7
10 µL	Temed (N,N,N,N'-tetramethylenediamine)
80 µL	SDS (sodium dodecyl sulfate)
6 mL	APS (ammonium persulfate)

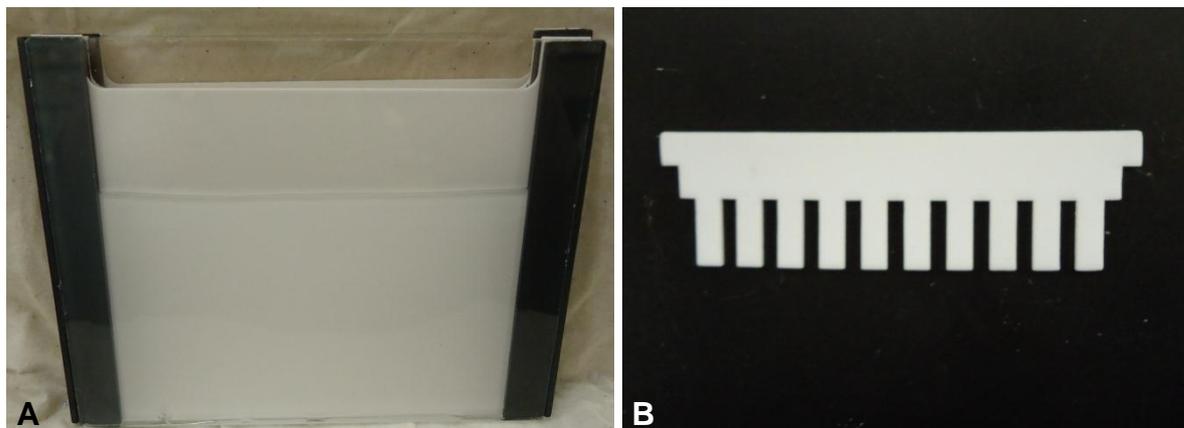


Figura 11. Placa contendo gel de poliacrilamida 12,5% (A) e pente utilizado para formação dos poços para a colocação das amostras (B).

O tempo necessário para a solidificação do gel geralmente era o mesmo utilizado para a finalização do preparo das amostras. Portanto, assim que as amostras eram retiradas da centrífuga, o pente da placa de gel era removido e as amostras eram colocadas nos poços formados na placa de gel.

No primeiro poço era colocado o Standard⁷, seguido de 8 amostras, e o último poço era completado com Tampão 1X Laemmli (10 poços no total). A tampa da cuba era colocada e os cabos eram conectados ao aparelho de eletroforese que emitia a corrente elétrica regulada para 30 milliamperes para cada placa de gel, sendo 60 milliamperes por cuba (2 placas de gel).

Transferência:

Terminado o processo de eletroforese em gel (Figura 12A) as proteínas eram transferidas para uma membrana de nitrocelulose 0,2 μM ⁸ para poder detectá-las. Para tanto, o gel era retirado da placa e colocado em contato com a membrana dentro de grandes placas, suportados por duas finas esponjas de cada lado e filtros de papel para proteção (Figura 12B). A cuba era preenchida com 1X Tampão Towbin⁹ e uma corrente elétrica de 100 volts (V) era aplicada durante uma hora,

⁷ Precision Plus Protein TM Dual Color Standards #161-0374 – Bio-Rad Laboratories Headquarters, Hercules, CA.

⁸ Life Science Products, Denver, CO

⁹ 1X tampão Towbin (0,025 M Tris, 0,192M Glicina) – Sigma Chemical, St. Louis, MO

fazendo com que as proteínas movessem-se do gel para a membrana, mantendo a mesma disposição.

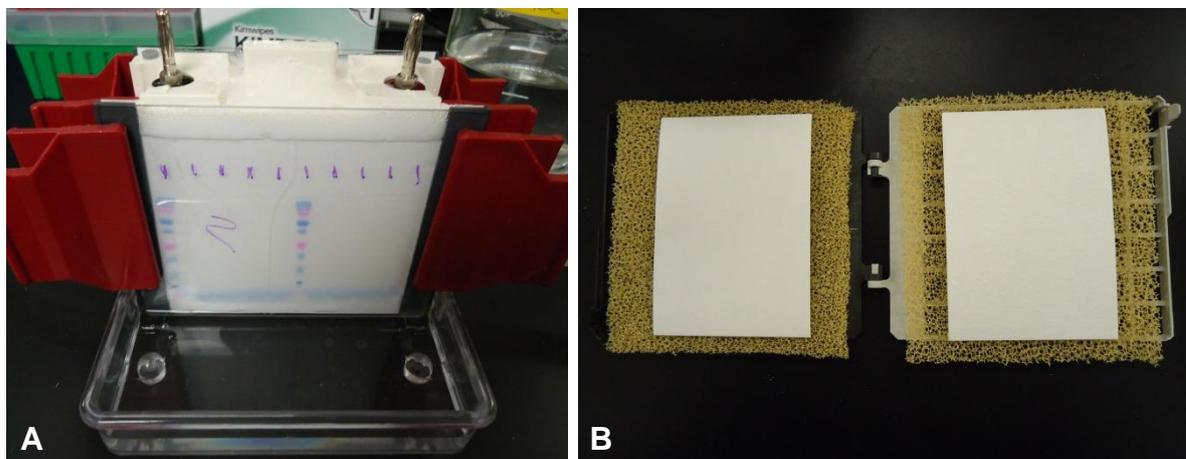


Figura 12. Processo de eletroforese em gel finalizado (A) e placas contendo uma fina espuma e filtro de papel para proteger o gel e a membrana de nitrocelulose durante o processo de transferência (B).

Bloqueio:

Durante o tempo de transferência era preparada a solução de bloqueio, composta por leite seco desnatado 5% FDN. Após a transferência, as membranas de nitrocelulose eram colocadas em recipientes contendo 20 μ L desta solução, onde permaneciam no mínimo por uma hora. Como a análise era demorada, caso não houvesse tempo de terminar no mesmo dia, estes recipientes eram armazenados durante uma noite a 4°C.

Detecção:

A solução de bloqueio era retirada e a diluição contendo o anticorpo primário era colocada sobre a membrana, permanecendo incubado com agitação durante 2 horas à temperatura ambiente. Após este período, as membranas eram lavadas três vezes com TBST¹⁰ (Figura 13A) e em seguida, incubadas com anticorpo secundário (Figura 13B) durante uma hora à temperatura ambiente. As diluições dos anticorpos variavam de acordo com o anticorpo utilizado e a proteína de interesse.

¹⁰ Solução Tris salina tamponada com 0,5% de Tween 20

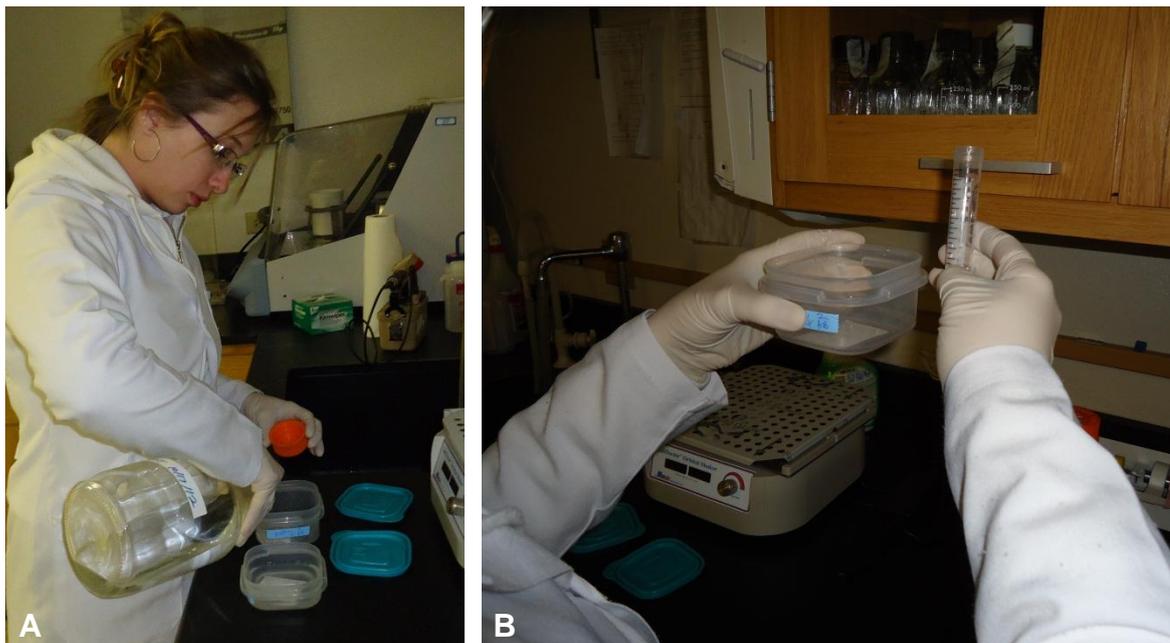


Figura 13. Lavagens realizadas após a incubação das membranas com anticorpo primário (A) e colocação da diluição contendo o anticorpo secundário (B).

Deteccção por fluorescência:

Após a incubação com o anticorpo secundário, as membranas eram novamente lavadas três vezes com TBST e então incubadas em substrato quimioluminescente¹¹ durante um minuto.

Na sequência, as membranas eram colocadas rapidamente sobre um filtro de papel para remover o excesso de substrato, em seguida, embrulhadas em papel filme (Figura 14) e expostas a filme de raios X durante 20 segundos, 1 e 3 minutos.

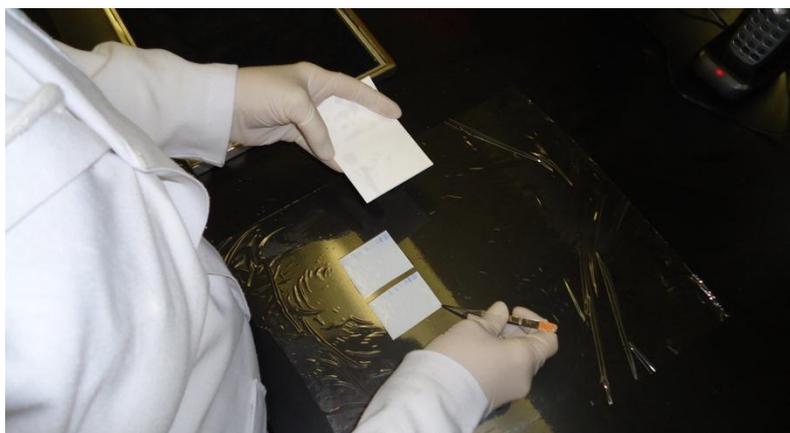


Figura 14. Membranas sendo embrulhadas em papel filme após removido o excesso de reagente em filtro de papel.

¹¹ Amersham™ ECL™ Prime Western Blotting Detection® Reagent GE Healthcare, Piscataway, NJ

Análise dos resultados:

Os filmes eram escaneados e quantificados usando UNSCANIT software¹².

3.1.2.1.2. Método para a síntese de DNA complementar (cDNA)

O DNA complementar (cDNA) é uma fita de DNA sintetizada pela enzima transcriptase reversa a partir de um molde de RNA.

Para a preparação de cDNA as amostras de RNA previamente extraído eram colocadas em Eppendorfs identificados, no volume correspondente 2 µg de RNA. Na sequência os Eppendorfs eram colocados no concentrador¹³ e cerca de 20 minutos após, eram acrescentados 15 µL de água estéril (livre de nuclease) e cada Eppendorf era homogenizado. Em seguida, eram acrescentados 4 µL de Tampão de transcrição reversa (5x) e 1 µL de IScript transcriptase reversa¹⁴.

Os Eppendorfs eram então colocados em um termociclador onde permaneciam 5 minutos a uma temperatura de 25° C, 30 minutos a 42° C, 5 minutos a 85° C. Após terminado o processo, eram mantidos em uma temperatura de 4° C.

Em seguida, o cDNA era diluído em 100 µL de água estéril (livre de nuclease) e armazenados a -20 °C até a realização do Real Time PCR.

3.1.2.1.3. Real Time PCR

O método de Real Time PCR difere-se do tradicional PCR pois pode-se acompanhar o que ocorreu com cada amostra durante todo o processo no termociclador. A diferença é que o termociclador em tempo real é capaz de captar sinais luminosos que são gerados pelo reagente SYBR Green durante a amplificação do material genético. Diante disso, pode-se visualizar com quantos ciclos ocorreu a fase exponencial de amplificação e assim estimar a quantidade de material genético presente em cada amostra (quanto maior o conteúdo genético na amostra, menos ciclos são necessários para visualizar o início desta fase) e, conseqüentemente, sua expressão gênica (NASCIMENTO et al., 2010).

Antes de iniciar os procedimentos as bancadas eram limpas com álcool 70% com o intuito de evitar contaminação. Todos os procedimentos eram realizados com

¹² Silk Científica, Orem, Utah

¹³ SpeedVac® concentrator SVC100 – Thermo Savant (Fisher Scientific, Inc., Pittsburgh, PA).

¹⁴ Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA

a utilização de luvas para impedir que enzimas presentes na pele humana degradassem o material genético presente na amostra.

Para que a reação pudesse ser realizada era necessário preparar uma mistura contendo os componentes e respectivas quantidades visualizados na tabela 3. As quantidades das substâncias eram sempre multiplicadas pela quantidade de amostras para cada gene antes de iniciar a preparação do mix. Geralmente acrescentavam-se duas ou três amostras na conta considerando as perdas que ocorrem durante a pipetagem.

Tabela 5. Substâncias e respectivas quantidades utilizadas para a preparação do Mix para Real Time PCR.

Quantidade (µL)	Substância
12,5	SYBR Green Supermix ¹⁵
0,5	Água Estéril (livre de nuclease)
1 (500 pmol)	Primer senso (foreward)
1 (500 pmol)	Primer anti-senso (reverse)

Os primers para a reação foram desenhados utilizando o software online Primer 3¹⁶ com 100 pares de base de tamanho.

Todos os reagentes do mix para Real Time PCR (exceto a água livre de nuclease) e os Eppendorfs contendo o cDNA eram acondicionados em uma caixa contendo gelo para evitar degradação.

As análises eram realizadas em duplicata para cada gene e no mínimo um gene (geralmente o gene codificante para a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase – GAPDH) era utilizado como gene interno de controle. Eram acrescentados 10 µL de cDNA e 15 µL do mix para Real Time para cada poço (placa com 96 poços). Após, a placa era lacrada, centrifugada por um minuto e em seguida colocada no termociclador¹⁷.

A amplificação era realizada utilizando 40 ciclos de 95° C por 30 segundos e 60°C por 30 segundos. Era realizada uma análise da curva de fusão pós-amplificação para garantir a qualidade dos produtos de PCR (curva de melting),

¹⁵ SYBR Green Supermix® - Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA

¹⁶ Simgene.com (<http://simgene.com/Primer3>)

¹⁷ IQ5® - Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA

indicada pela presença de um único pico no gráfico (Figura 15). Para tanto a placa de PCR era aquecida a 95°C durante 3 min, arrefecida até 55°C, em seguida, a temperatura aumentada em 0,5°C por segundo até 95°C.

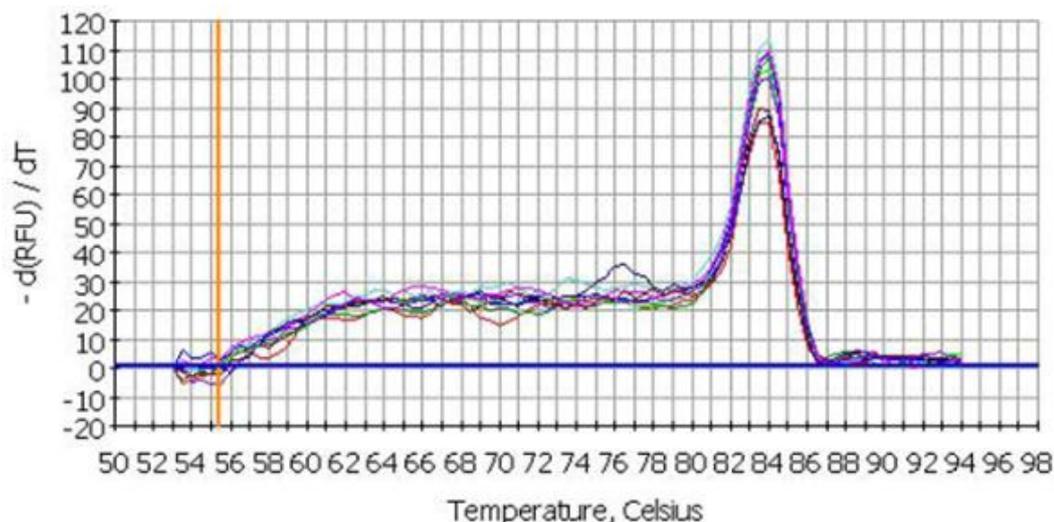


Figure 15. Único pico na curva de melting gerada pelo software do termociclador de real time PCR, indicando a qualidade da reação.

Todos os níveis de expressão de genes eram quantificados e relatados em relação à expressão de GAPDH utilizando o método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (LIVAK & SCHMITTGEN, 2001).

3.1.2.2. Laboratório de Nutrição de Ruminantes

Além das atividades do Laboratório de Biologia Reprodutiva, nos últimos dias de estágio foram acompanhadas algumas análises bromatológicas dos alimentos utilizados em experimentos do Department of Animal Science, realizadas no Laboratório de Nutrição de Ruminantes.

Os alimentos eram coletados em sacos plásticos e armazenados no gelo até a realização das análises.

Infelizmente, devido ao curto período, não foi possível acompanhar as análises completas, visto que são necessárias várias etapas.

Resumidamente, a primeira análise realizada era a avaliação do teor de matéria seca. Para tanto, primeiramente os alimentos eram triturados, pesados, identificados e então colocados em um forno em temperatura de 105°C por 24 horas, ou a 50°C por 48 horas. Após este período, os alimentos eram pesados novamente. Na sequência eram realizadas as demais análises, proteína bruta, fibra

em detergente neutro e fibra em detergente ácido. As análises eram realizadas a partir da amostra seca para possibilitar a comparação de nutrientes de vários alimentos, uma vez que cada um difere em relação a quantidade de água presente, não sendo possível a comparação quando estes estão na base natural. No laboratório de nutrição de ruminantes não eram realizadas análises de cinzas e extrato etéreo.

3.2. Atividades Didáticas

3.2.1. Acompanhamento de Disciplinas

Durante o período de estágio foram acompanhadas duas disciplinas (como aluno ouvinte) oferecidas no semestre de outono relacionado com a área do estágio: Nutritional Management e Livestock Production.

As aulas da disciplina de Nutritional Management eram ministradas pela professora Dra. Allison Meyer todas as segundas- feiras e quartas-feiras.

O conteúdo programático compreendeu desde a revisão do trato digestório de cada espécie, cálculo de dietas (as quartas-feiras eram somente para exercícios de cálculo), além de diferenciação de ingredientes para dietas e discussão de preços de mercado, entre outros.

Nas quintas-feiras a disciplina era voltada para a pós-graduação, onde a turma era dividida em grupos de discussão, sendo que em cada aula uma pessoa era responsável por introduzir o assunto e conduzir a discussão.

Diferentemente, as aulas da disciplina de Livestock Production eram ministradas por diversos professores, de acordo com os tópicos de cada parte do conteúdo programático, todas as segundas, quartas e sextas-feiras. O professor coordenador era o Dr. Paul Ludden.

A disciplina era considerada a introdução à zootecnia pois eram ministrados diversos conteúdos, como reprodução, qualidade de carne, leite, genética, entre outros, porém superficialmente.

3.2.2. Journal Club

Todas as terças-feiras eram realizados encontros para a discussão de artigos relacionados com a área de nutrição, manejo e reprodução de bovinos de corte. Os encontros eram realizados pela coordenação da professora Dra. Allison Meyer, contando com um pequeno grupo de pós-graduandos (10 pessoas no total).

O local onde os encontros eram realizados era geralmente um restaurante/bar, que permitia uma discussão séria de forma descontraída.

Os artigos eram enviados uma semana antes do encontro e cada participante levava impresso com as suas anotações. Cada um era motivado a responder perguntas conduzidas pela professora e questionar formas diferentes de realização dos experimentos, ou quaisquer dúvidas pertinentes aos artigos.

3.2.3. Seminários

Todas as sextas-feiras ao meio dia era realizado o Seminário do Department of Animal Science com diferentes tópicos da área, palestrados por professores e/ou profissionais da área.

4. EXPECTATIVA X REALIDADE

Este capítulo tem a finalidade de apresentar o meu senso crítico em relação ao Estágio Curricular Supervisionado, o que considero de grande importância para um futuro profissional no mercado de trabalho.

Primeiramente, confesso que me identifiquei muito com a área escolhida, sendo um dos prós a aquisição de segurança, autoconfiança e satisfação nas atividades realizadas durante o período de estágio.

Em contrapartida, um dos contras é que esperava mais do estágio na parte de campo, gostaria de ter aprendido mais técnicas reprodutivas como, por exemplo, transferência de embriões, que é uma das áreas em que meu orientador de estágio possui grande experiência. Infelizmente não foi possível a realização dessa atividade pois a estação reprodutiva no estado de Wyoming é realizada em maio e a universidade não possuía animais disponíveis para esta atividade no período do estágio.

O mesmo ocorreu com relação à parte nutricional. Não pude acompanhar todos os processos de análises bromatológicas, bem como ajustes de dietas à campo. Porém, consegui adquirir boa base teórica para isso acompanhando as disciplinas.

Gostei muito de aprender as técnicas laboratoriais pois me identifiquei muito também com a área de pesquisa e sei que será muito útil para o meu mestrado ou para algum emprego que exija experiência nesta área.

Outro ponto positivo do estágio é que não tive rotina. Cada dia era um novo aprendizado. Me senti útil, com vontade de aproveitar ao máximo cada oportunidade que surgia. E, além disso, me senti valorizada, pois todos me acolheram muito bem e deram abertura para eu aprender o que estivesse ao alcance deles me ensinar.

E, ainda, a vivência em outro país, o aprendizado da língua inglesa e da cultura americana foram, com certeza, outro grande ponto positivo, que fará diferença no meu futuro profissional.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária foi uma grande oportunidade de aprendizado na área de reprodução e nutrição de bovinos de corte e laboratorial. Sem dúvida, de grande valia para o crescimento profissional. Através das atividades vivenciadas durante este período foi possível aprender a agir diante de diferentes acontecimentos e realidades encontradas diariamente. Além disso, a região e as pessoas com quem tive contato, bem como o trabalho realizado fizeram com que o tempo de estágio fosse muito produtivo. Sendo assim, considero este estágio um grande aprendizado, que permitiu o desenvolvimento de inúmeras habilidades favorecendo o crescimento profissional e pessoal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

About Laramie - Laramie.com. Disponível em:

<<http://www.laramie.com/channel/About-Laramie/1828>>. Acesso em: 17 Out 2012

ASBIA (Associação Brasileira de Inseminação Artificial) – Vendas de sêmen Brasil.

Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>>. Acesso em: 07 Nov 2012.

Censo 2010 – Laramie, Wyoming. Disponível em:

<<http://quickfacts.census.gov/qfd/states/56/5645050.html>>. Acesso em: 17 Out 2012.

DEE WHITTIER, W. Why are we challenged with the use of AI in Southeastern USA commercial beef operations? In: Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle, 2010, Nashville, Tennessee. **Applied Reproductive Strategies Conference Proceedings**, 2010.

Economic Statistics – Laramie, Wyoming. Disponível em:

<<http://www.infoplease.com/us/census/data/wyoming/laramie/economic.html>>.

Acesso em: 24 Out 2012.

Ergomix – Perspectivas da produção mundial de carnes, 2007 a 2015 (2009).

Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-pecuaria-corte/artigos/perspectivas-producao-mundial-carnes-t140/p0.htm>>. Acesso em 07 Nov 2012.

History of Laramie - Laramie.com. Disponível em:

<<http://www.laramie.com/channel/History-of-Laramie/1827>>. Acesso em: 17 Out 2012.

LIVAK, K. J. & SCHMITTGEN, T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data using Real-Time Quantitative PCR and the 2-ddCT method. **Applied Biosystems, Methods** 25, 402-408, 2001.

Laramie - Wikipedia. Disponível em:

<http://en.wikipedia.org/wiki/Laramie,_Wyoming>. Acesso em: 17 Out 2012.

MENDES, M. F. A. Eletroforese Desnaturante em Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE). Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/leo/eletroforese/policrilamida.htm>>.

Acesso em: 03 Nov 2012.

NAAB (National Association of Animal Breeders) – Vendas de sêmen EUA.

Disponível em: <http://www.naab-css.org/sales/table_list.html>. Acesso em: 07 Nov 2012.

NASCIMENTO, S., SUAREZ, E. R., PINHAL, M. A. S. Revisao: Tecnologia de PCR e RT-PCR em tempo real e suas aplicações na área médica. **Revista Brasileira de Medicina**, Especial Oncologia, v.67, 2010. Disponível em:

<http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4499>. Acesso em: 04 Nov 2012.

University of Wyoming History. Disponível em:
<<http://www.uwyo.edu/profiles/extras/uw-history.html>>. Acesso em: 27 Out 2012.

University of Wyoming – Wikipedia. Disponível em:
<http://en.wikipedia.org/wiki/University_of_Wyoming>. Acesso em: 27 Out 2012.

UW News Home – October 8, 2012 – UW Fall Enrollment Hits New High. Disponível em: <<http://www.uwyo.edu/uw/news/2012/10/uw-fall-enrollment-hits-new-high.html>>. Acesso em: 27 Out 2012.

USDA (United States Department of Agriculture) – Beef 2012
<<http://www.fas.usda.gov/hp/CP2012/Beef-2012-Final.pdf>>. Acesso em 07 Nov 2012.

USDA (United States Department of Agriculture) – Cattle & Beef. Disponível em:
<http://www.ers.usda.gov/topics/animal-products/cattle-beef.aspx>>. Acesso em: 07 Nov 2012.

USDA (United States Department of Agriculture) – Cattle Summary Selected Countries.
<<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=Cattle+Summary+Selected+Countries++++&hidReportRetrievalID=1648&hidReportRetrievalTemplateID=7>>. Acesso em: 07 Nov 2012.

USDA (United States Department of Agriculture) – Census of Agriculture 2007.
Disponível em:
<http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2007/Online_Highlights/Fact_Sheets/Production/beef_cattle.pdf>. Acesso em: 07 Nov 2012.

Wyoming Economy – NetState, Wyoming. Disponível em:
<http://www.netstate.com/economy/wy_economy.htm>. Acesso em: 24 Out 2012.

Wyoming - Wikipedia. Disponível em: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Wyoming>>. Acesso em: 17 Out 2012.

ANEXOS

ANEXO I – Registro de atividades

Apresentar as atividades realizadas, em linhas gerais, em cada dia do estágio, na forma de quadro. Deve constar a rubrica do orientador profissional em todas as páginas e ao final a assinatura do mesmo, corroborando as informações contidas nesse registro.

Data	Atividade realizada
24/08/2012	Apresentação aos orientadores, professores e funcionários
27/08/2012	Apresentação campus, prédio do Animal Science
28/08/2012	Campus – Estudo/Leitura
29/08/2012	Campus – Estudo/Leitura
30/08/2012	Campus – Estudo/Leitura
31/08/2012	Campus – Estudo/Leitura
03/09/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
04/09/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
05/09/2012	Fazenda – Desmame Terneiros
06/09/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
07/09/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
10/09/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
11/09/2012	Campus – Estudo/Leitura/Journal Club
12/09/2012	Centro de Pesquisa – Coleta de sangue terneiros experimento
13/09/2012	Treinamento Programa de Educação de Ética em Pesquisa
14/09/2012	Treinamento de Segurança Laboratorial
17/09/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
18/09/2012	Campus – Estudo/Leitura/Journal Club
19/09/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
20/09/2012	Colorado Nutrition Roundtable
21/09/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
24/09/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
25/09/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Journal Club
26/09/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Aulas
27/09/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva

28/09/2012	Dia de Campo – Cattleman’s Bootcamp Workshop
01/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva
02/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Journal Club
03/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Aulas
04/10/2012	Campus – Estudo/Leitura
05/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva
08/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Aulas
09/10/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
10/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Aulas
11/10/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
12/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Aulas
15/10/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
16/10/2012	Campus – Estudo/Leitura
17/10/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
18/10/2012	Campus – Estudo/Leitura + Discussão
19/10/2012	Fazenda – Entrega novilhas leilão da universidade
22/10/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
23/10/2012	Campus – Laboratório de Nutrição/Journal Club
24/10/2012	Centro de Pesquisa – Coleta de sangue terneiros experimento
25/10/2012	Campus – Estudo/Leitura
26/10/2012	Fazenda – Diagnóstico de Gestação
29/10/2012	Campus – Aulas/Estudo/Leitura
30/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva
31/10/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva
01/11/2012	Campus – Laboratório de Nutrição/Discussão/Laboratório de Biologia Reprodutiva
02/11/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva
05/11/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva
06/11/2012	Campus – Estudo/Leitura
07/11/2012	Campus – Estudo/Leitura
08/11/2012	Campus – Laboratório de Nutrição/Laboratório de Biologia Reprodutiva
09/11/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva

12/11/2012	Campus – Laboratório de Biologia Reprodutiva/Aulas
13/11/2012	Campus – Laboratório de Nutrição

Li e confirmo as informações contidas neste anexo.

Dr. Scott Lake

Orientador de estágio

ANEXO II – Relatório parcial

Acadêmico: Samanta Regine Fensterseifer

Orientador Acadêmico: Dr. Marcio Nunes Corrêa

Orientador de Estágio: Dr. Scott Lake

Data: 03 de outubro de 2012

O Estágio Curricular Supervisionado iniciou-se no dia 24 de agosto de 2012 junto ao Departamento de Animal Science, da University of Wyoming, na cidade de Laramie – Wyoming (EUA).

Durante este período inicial foram acompanhadas, basicamente, atividades acadêmicas e de campo. Dentre as atividades acadêmicas, uma vez por semana participo de um encontro da pós-graduação denominado “Journal Club”, no qual discutimos artigos científicos da área. Além disso, acompanho aulas de duas disciplinas como aluno ouvinte, Nutritional Management (segundas e quartas) e Livestock Production (segundas, quartas e sextas).

Como atividades de campo acompanhei, principalmente, diagnósticos de gestação e manejos zootécnicos (Tabela 1). Pude realizar sozinha os diagnósticos de gestação em duas propriedades, uma com 74 novilhas e outra com 60 vacas multíparas.

Tabela 6. Atividades de campo realizadas durante o período de 24 de agosto à 03 de outubro de 2012 na disciplina de Estágio Curricular Supervisionado.

Número de animais	Atividades
180	Diagnóstico de gestação
240	Desmame terneiros – Pesagem, Aplicação de Dectomax ¹⁸ + Vacinação (One Shot Ultra™ 8 ¹⁹ + CattleMaster GOLD FP 5 ²⁰)
74	Diagnóstico de gestação
28	Coleta de sangue terneiros (experimento)

¹⁸ DECTOMAX® - Pfizer Saúde Animal

¹⁹ One Shot Ultra™ 8® - Pfizer Saúde Animal

²⁰ CattleMaster GOLD FP 5® - Pfizer Saúde Animal

240	Diagnóstico de gestação
60	Diagnóstico de gestação

Nos Estados Unidos da América apenas 8% das propriedades de gado de corte utilizam inseminação artificial, o restante realiza cobertura através de monta natural, onde os touros permanecem em torno de 45 a 60 dias com as fêmeas. Dessa forma, o diagnóstico de gestação é realizado através do uso do ultrassom, geralmente 60 dias a partir retirada dos touros, com o intuito de verificar quais vacas estão vazias para vendê-las antes do inverno. Com relação à raça, o que predomina na região é Angus, além do cruzamento de Angus x Simmental.

Na terceira e quarta semana iniciei o acompanhamento das atividades de laboratório. Dentre estas, aprendi como realizar análises de Western Blot, um método de quantificação de proteínas por meio de biologia molecular e bioquímica. O processo é demorado e minucioso, sendo dividido em várias etapas. Basicamente utiliza-se eletroforese em gel para separação das proteínas por massa, seguida de sucessivas lavagens com anticorpos específicos. Por fim, é acrescentada uma substância fluorescente que se liga aos anticorpos, gerando um sinal fotométrico que garante a visualização dos resultados.

Além disso, acompanhei rodadas de RT-PCR e Real Time PCR.