

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Efeitos da ordem de parto materna e do sexo sobre a imunidade, o estresse, o desempenho e o metabolismo de bezerros de corte.**

Naiara Aparecida Marcos  
*Doctor Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**NAIARA APARECIDA MARCOS**

**Efeitos da ordem de parto materna e do sexo sobre a imunidade, o estresse, o desempenho e o metabolismo de bezerros de corte.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Luciana Navajas Renno

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M321e  
2024 Marcos, Naiara Aparecida, 1992-  
Efeitos da ordem de parto materna e do sexo sobre a  
imunidade, o estresse, o desempenho e o metabolismo de  
bezerros de corte / Naiara Aparecida Marcos. – Viçosa, MG,  
2024.

1 tese eletrônica (87 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Orientador: Luciana Navajas Rennó.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Zootecnia, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.808>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bezerros - Registros de desempenho. 2. Hidrocortisona.  
3. Vacas. 4. Parto. 5. Imunidade materno-adquirida.  
6. Metabólitos. I. Rennó, Luciana Navajas, 1973-  
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia.  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 636.213

## NAIARA APARECIDA MARCOS

**Efeitos da ordem de parto materna e do sexo sobre a imunidade, o estresse, o desempenho e o metabolismo de bezerros de corte.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 6 de setembro de 2024.

Assentimento:

---

Naiara Aparecida Marcos  
Autora

---

Luciana Navajas Renno  
Orientadora

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 16/12/2024 às 16:42:53 e pela orientadora em 16/12/2024 às 17:07:56. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **61IQ.RRUL.3GGP** e clique no botão 'Validar documento'.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Finalizar esta tese representa não só o resultado de anos de esforço e dedicação, mas também o reflexo do apoio e da contribuição de muitas pessoas que, de diferentes maneiras, estiveram presentes ao longo dessa jornada. Quero expressar minha imensa gratidão a todos que estiveram comigo durante esse caminho.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela saúde, resiliência e foco durante toda esta e outras etapas da minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento deste projeto de pesquisa e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-Animal) pelo apoio financeiro a este projeto. A Professora Luciana pela orientação, paciência e confiança ao longo de todo o processo. Sua expertise, incentivos e críticas construtivas foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

A Isabela, a quem eu sou imensamente grata pela paciência, pelo companheirismo e pelo apoio durante a fase experimental, as análises e ao longo de todo o Doutorado. Agradeço de coração pela sua amizade e por estar ao meu lado durante esse período tão importante.

Aos amigos e estagiários do NEFIR, agradeço pelo ótimo convívio, trocas de conhecimento, auxílio na realização de análises ou revisões de trabalhos e pelos momentos de boas conversas e boas risadas compartilhados.

Aos queridos amigos João e Juliana, que sempre me ouvem com tanto carinho e atenção, me entendem com paciência e estão sempre dispostos a ajudar e aconselhar nas dificuldades, mas também a compartilhar a alegria nos momentos felizes.

Aos meus amigos Raully e Alex, que, mesmo distantes, estão sempre presentes em todos os momentos.

Ao Nequinho e Norival pelo auxílio fundamental durante a condução do experimento, especialmente no período desafiador da pandemia. Não teríamos conseguido sem o empenho, dedicação e apoio de vocês.

Aos meus irmãos Neimar, Neil e Cíntia por sempre entenderem as vezes em que não pude estar com vocês, e por, mesmo à distância, sentirem orgulho e torcerem por mim em todas as etapas da minha vida.

Ao meu pai (in memoriam) e minha mãe, minha eterna gratidão por não

medirem esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Agradeço profundamente por todo o amor, dedicação e abdicção que fizeram em prol de minha felicidade e realização. Pai, espero ter sido motivo de orgulho para você e desejo, com todo o meu coração, retribuir à nossa família, mesmo que de forma modesta, tudo aquilo que você fez por mim em vida.

A minha prima Denilce, que carinhosamente chamo de “Pepete,” por também estar presente em todas as etapas importantes em minha vida e por me incentivar em todas elas. O seu apoio e carinho fazem toda a diferença e me motivam a seguir em frente.

Enfim, agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram a percorrer cada passo até aqui.

## RESUMO

MARCOS, Naiara Aparecida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2024. **Efeitos da ordem de parto materna e do sexo sobre a imunidade, o estresse, o desempenho e o metabolismo de bezerros de corte..** Orientadora: Luciana Navajas Renno.

A ordem de parto da vaca tem sido apontada como um fator importante que influencia o desempenho dos bezerros durante a fase de pré-desmame. Além disso, o período neonatal é caracterizado por múltiplos estressores que afetam o par bezerro-vaca. No entanto, ainda são limitadas as informações sobre como essas respostas podem variar conforme a ordem de parto materna e se o sexo do bezerro exerce influência adicional sobre o desempenho nessa fase crucial. Os objetivos desses três estudos foram: Avaliar a acurácia diagnóstica de métodos indiretos de avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos; avaliar se a ordem de parto materna e o sexo do bezerro influenciam a resposta ao estresse no período neonatal e avaliar o desempenho e metabolismo de desses bezerros durante a fase pré- desmame. Foram utilizados 32 bezerros Red Angus x Nelore, provindos de 32 vacas Nelore, sendo 17 pluríparas (dez machos e sete fêmeas) e 15 primíparas (sete machos e oito fêmeas). Esses animais foram alocados em oito piquetes em que, cada piquete haviam pares vaca- bezerro de cada grupo de ordem de parto. Como principais resultados do primeiro estudo, a concentração de globulinas apresentou o melhor desempenho para avaliar a transferência de imunidade passiva (Se = 77,1%; Sp = 88,6% a 3,15 g/dL). Para o refratômetro óptico, a combinação ótima de Se e Sp foi de 8,4% brix (Se = 76,6% e Sp = 77,1%). O refratômetro óptico e as globulinas apresentaram boa acurácia diagnóstica. No segundo estudo, ao avaliar a imunidade de bezerros de corte, os níveis séricos de IgG apresentaram maior concentração no dia do nascimento e diminuíram de acordo com o avanço da idade ( $p < 0,001$ ). Em relação aos biomarcadores de estresse, observou-se que os níveis séricos de albumina aumentaram com o avançar da idade dos animais até os 14 dias de idade ( $p < 0,001$ ). As concentrações de glicose foram influenciadas pela idade dos bezerros com concentração máxima aos sete dias e diminuíram, estabilizando-se aos 14 dias ( $p < 0,001$ ). As concentrações de haptoglobina plasmáticas foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $p < 0,001$ ), em que bezerros de primíparas apresentaram maiores concentrações que os bezerros de pluríparas, contudo, não foram influenciadas pelo sexo do bezerro, dias de vida e suas interações ( $p > 0,05$ ). As concentrações de ceruloplasmina apresentaram interação de sexo com a idade, sendo maiores as

concentrações dessa proteína em bezerros machos no dia 14 ( $p < 0,05$ ), e foram afetadas pela idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ) e aumentaram do dia do parto até os 14 dias. Os principais resultados do terceiro estudo indicaram que bezerros de pluríparas apresentaram maior peso corporal ao longo do estudo em relação aos bezerros de primíparas ( $p < 0,02$ ). Houve efeito do sexo no ganho médio diário (GMD), sendo que bezerros machos apresentaram maior GMD ( $p < 0,001$ ). As concentrações de IGF-1 não foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $P > 0,05$ ), porém houve interação entre sexo e dia ( $p < 0,05$ ), em que bezerros machos apresentaram maiores concentrações aos 140 e 203 dias. Não foi observado efeito da ordem de parto materna, do sexo do bezerro e a interação entre eles sobre as concentrações de proteínas totais, globulinas e albumina ( $p > 0,05$ ). As concentrações de colesterol total foram maiores para bezerras fêmeas em relação aos bezerros machos ( $p < 0,05$ ). As concentrações de HDL foram influenciadas pelo sexo dos bezerros ( $p < 0,01$ ), em que bezerras fêmeas tiveram maiores níveis em relação aos bezerros machos. As concentrações de LDL não foram influenciadas pela ordem de parto materna e sexo do bezerro ( $p > 0,05$ ), porém foi encontrada interação ordem de parto materna\*dia ( $p < 0,001$ ), em que essas concentrações foram maiores para bezerros filhos de pluríparas aos 7, 14 e 21 dias de idade. A ordem de parto materna, o sexo e a interação entre eles não influenciaram as concentrações de VLDL e triglicérides ( $p > 0,05$ ). Houve efeito de ordem de parto materna e idade nas atividades das enzimas AST e ALT ( $p < 0,05$ ), sendo que bezerros filhos de primíparas apresentaram maior atividade do que os bezerros de pluríparas. Foi observado interação entre ordem de parto materna e idade ( $p < 0,05$ ), nas concentrações de creatinina, com maiores concentrações em bezerros de pluríparas aos 203 dias de idade. Concluímos que, do ponto de vista prático, o refratômetro Brix óptico é a ferramenta mais recomendada devido à sua relação custo-benefício para uso em fazendas. Observamos que bezerros de corte apresentam respostas diferenciadas ao estresse durante o período neonatal, influenciadas pela ordem de parto materna e sexo. Além disso, no período pré-desmame, essas diferenças impactam tanto o desempenho quanto as características metabólicas dos animais, destacando a importância de considerar ambos os fatores no manejo de bezerros de corte.

Palavras-chave: cortisol; fêmea; ganho de peso; haptoglobina; imunoglobulinas g; macho; metabólitos; pluríparas; primíparas

## ABSTRACT

MARCOS, Naiara Aparecida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2024. **Effects of maternal parity order and sex on immunity, stress, performance, and metabolism of beef calves.**.. Adviser: Luciana Navajas Renno.

The cow's parity order has been identified as an important factor influencing calf performance during the pre-weaning phase. Furthermore, the neonatal period is characterized by multiple stressors that affect the cow-calf pair. However, there is still limited information on how these responses may vary according to maternal parity and whether calf sex exerts additional influence on performance during this critical phase. The objectives of these three studies were: to evaluate the diagnostic accuracy of indirect methods for assessing the transfer of passive immunity in neonatal calves; to determine whether maternal parity and calf sex influence the stress response during the neonatal period; and to evaluate the performance and metabolism of these calves during the pre-weaning phase. A total of 32 Red Angus x Nelore calves from 32 Nelore cows were used, including 17 multiparous cows (10 male and 7 female calves) and 15 primiparous cows (7 male and 8 female calves). These animals were allocated to eight paddocks, each containing cow-calf pairs from both parity groups. The main results of the first study indicated that the concentration of globulins showed the best performance in assessing passive immunity transfer (Se = 77.1%; Sp = 88.6% at 3.15 g/dL). For the optical refractometer, the optimal combination of Se and Sp was 8.4% Brix (Se = 76.6% and Sp = 77.1%). Both the optical refractometer and globulins demonstrated good diagnostic accuracy. In the second study, when assessing calf immunity, serum IgG levels were highest at birth and decreased with age ( $p < 0.001$ ). Regarding stress biomarkers, serum albumin levels increased with age until 14 days old ( $p < 0.001$ ). Glucose concentrations peaked at seven days and then stabilized at 14 days ( $p < 0.001$ ). Plasma haptoglobin concentrations were influenced by maternal parity ( $p < 0.001$ ), with calves from primiparous cows showing higher levels than those from multiparous cows. However, these concentrations were not affected by calf sex, age, or their interactions ( $p > 0.05$ ). Ceruloplasmin concentrations showed an interaction between sex and age, with higher levels in male calves on day 14 ( $p < 0.05$ ). Ceruloplasmin levels increased from birth to 14 days ( $p < 0.001$ ). The main results of the third study indicated that calves from multiparous cows had higher body weights throughout the study compared to those from primiparous cows ( $p < 0.02$ ). There was a sex effect on average daily gain (ADG), with male calves

achieving higher ADG ( $p < 0.001$ ). IGF-1 concentrations were not influenced by maternal parity ( $p > 0.05$ ), but an interaction between sex and age was observed ( $p < 0.05$ ), with male calves showing higher levels at 140 and 203 days. Maternal parity, calf sex, and their interactions did not affect total protein, globulin, and albumin concentrations ( $p > 0.05$ ). Total cholesterol levels were higher in female calves than in males ( $p < 0.05$ ). HDL

concentrations were influenced by calf sex ( $p < 0.01$ ), with female calves having higher levels than males. LDL concentrations were not influenced by maternal parity or calf sex ( $p > 0.05$ ), but an interaction between maternal parity and age was observed ( $p < 0.001$ ), with higher levels in calves from multiparous cows at 7, 14, and 21 days of age. Maternal parity, sex, and their interactions did not affect VLDL and triglyceride concentrations ( $p > 0.05$ ). Maternal parity and age affected AST and ALT enzyme activities ( $p < 0.05$ ), with calves from primiparous cows showing higher activity than those from multiparous cows. An interaction between maternal parity and age was observed for creatinine concentrations ( $p < 0.05$ ), with higher levels in calves from multiparous cows at 203 days. From a practical perspective, the optical Brix refractometer is the recommended tool due to its cost-effectiveness for on-farm use. Beef calves showed differentiated stress responses during the neonatal period, influenced by maternal parity and calf sex. Additionally, these differences significantly impacted performance and metabolic characteristics during the pre-weaning phase, emphasizing the importance of considering both factors in beef calf management strategies.

Keywords: cortisol; female; weight gain; haptoglobin; immunoglobulin g; male; metabolites; multiparous; primiparous

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>10</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>12</b>
CAPÍTULO 1- Acurácia diagnóstica de métodos indiretos para avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos (Manuscrito em preparação).....	14
CAPÍTULO 2 - Influência da ordem de parto materna e do sexo na imunidade e respostas ao estresse neonatal em bezerros de corte em pastejo (Manuscrito em preparação) .....	31
CAPÍTULO 3 - Influência da ordem de parto materna e do sexo sobre o desempenho e metabolismo de bezerros de corte no período pré-desmame (Manuscrito em preparação) .....	54
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>87</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A transferência de imunidade passiva em bezerros ocorre pela ingestão de imunoglobulinas presentes no colostro, principalmente a imunoglobulina G (IgG). Essa transferência é essencial para proteger os bezerros contra doenças, reduzir o risco de mortalidade e assegurar seu bom desempenho inicial e deve ser realizada dentro das primeiras 24 h de vida do bezerro (Smith, 1985; Weaver et al, 2000; Godden, 2008). Métodos comerciais para quantificar IgG são amplamente utilizados com o intuito de avaliar a eficácia da transferência de imunidade passiva, dentre eles podemos citar a técnica de imunodifusão radial, sendo esta, considerada o padrão ouro dentre as outras. No entanto, essa técnica é laboriosa e cara, o que limita seu uso prático em fazendas (Weaver et al., 2000; Morrill et al., 2013; Buczinski et al., 2018). Dentro desse contexto, a utilização de métodos indiretos de avaliação de IgG com melhor custo-benefício tem sido propostos para que se torne viável a avaliação de IgG em fazendas de bovinocultura de corte, afim de evitar riscos de mortalidade e alta morbidade em bezerros de corte (Mugnier et al., 2020; Akkose et al., 2023).

A qualidade do colostro e, conseqüentemente, a eficácia da transferência de imunidade passiva, pode ser influenciada pela ordem de parto da vaca. Em vacas de leite, está bem documentado que vacas primíparas produzem colostro de qualidade inferior em comparação com vacas pluríparas, afetando a imunidade passiva da prole (Aydogdu e Guzelbektes, 2018, Turini et al., 2020; Brereton et al., 2024). Embora essa relação tenha sido menos estudada em vacas de corte, evidências sugerem que a composição do colostro entre vacas primíparas e pluríparas de corte é semelhante (McGee e Earley, 2019; Altvater-Hughes et al., 2022), no entanto, mais pesquisas são necessárias para entender como a ordem de parto influencia o status de imunidade passiva em bezerros de corte, especialmente em sistemas extensivos, em regiões tropicais.

A ordem de parto também pode impactar significativamente a distribuição de nutrientes para a progênie durante os períodos pré e pós-natal, aumentando o estresse perinatal, especialmente em primíparas. A primeira gestação, parto e lactação apresentam desafios únicos que afetam tanto as mães quanto os bezerros, com poucos estudos que focam na influência desse estresse sobre a prole, com avaliações se restringem ao peso ao nascimento (Mc Gee et al., 2006; Yehia et al., 2020; Duncan et al., 2023; Meyer e Redifer et al, 2024).

Outro fator que pode influenciar a imunidade e o estresse em bezerros neonatos é o sexo do bezerro. Estudos em vacas de leite demonstraram diferenças na produção e composição do

colostro dependendo do sexo da prole, o que pode levar a respostas imunológicas e de estresse distintas nos bezerros (Angulo et al., 2015, Gillespie et al., 2017). Contudo, a maioria dessas pesquisas foi conduzida com vacas leiteiras, e os efeitos do sexo dos bezerros de corte na imunidade e estresse ainda são pouco explorados.

Durante a fase de pré-desmame, diversos fatores podem afetar o desenvolvimento dos bezerros, incluindo a ordem de parto materna (López Valiente et al., 2021). Em sistemas onde as novilhas são criadas para parir aos dois anos, os nutrientes precisam ser divididos entre o crescimento da mesma, o feto e a lactação, o que pode influenciar o crescimento e a saúde dos bezerros após o nascimento (Long et al., 2021; Duncan et al., 2023; Meyer e Redifer, 2024). Embora existam estudos sobre o desempenho de bezerros de vacas primíparas, poucos avaliam a influência da ordem de parto no metabolismo e desempenho de bezerros de corte durante o período pré-desmame (López Valiente et al., 2021; Meyer e Redifer, 2024). Avaliar o desempenho associado ao metabolismo é crucial, pois as medidas de desempenho isoladas podem não refletir adequadamente o bem-estar dos bezerros em janelas críticas de desenvolvimento (Hulbert e Moisés, 2016).

Algumas pesquisas indicam que o sexo dos bezerros também pode afetar índices produtivos e reprodutivos, como o peso ao nascer e a composição do leite (Chegini et al., 2015; Kertz et al., 1996; Kappes et al., 2023), no entanto, a maioria desses estudos foram realizados com vacas leiteiras e os resultados controversos, focando mais nos efeitos sobre as mães do que sobre os bezerros (Gillespie et al., 2017; Quaresma et al., 2020). Assim, é necessário investigar mais profundamente como o sexo dos bezerros de corte influencia seu desempenho e metabolismo durante a fase de pré-desmame.

Dessa forma, objetivou-se: analisar a acurácia diagnóstica de cinco métodos indiretos capazes de avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos; avaliar o efeito da ordem de parto materna e do sexo do bezerro sobre a imunidade e o estresse neonatal de bezerros de corte em pastejo e avaliar a influência da ordem de parto materna e do sexo no desempenho e metabolismo de bezerros de corte em pastejo durante o período pré-desmame.

## REFERÊNCIAS

- Akköse, M., Buczinski, S., Özbeyaz, C., Kurban, M., Cengiz, M., Polat, Y., & Aslan, O. (2023). Diagnostic accuracy of refractometry methods for estimating passive immunity status in neonatal beef calves. *Veterinary clinical pathology*, 52(1), 53-63.
- Altvater-Hughes, T. E., Hodgins, D. C., Wagter-Lesperance, L., Beard, S. C., Cartwright, S. L., & Mallard, B. A. (2022). Concentration and heritability of immunoglobulin G and natural antibody immunoglobulin M in dairy and beef colostrum along with serum total protein in their calves. *Journal of animal science*, 100(2), skac006.
- Angulo, J., Gómez, L. M., Mahecha, L., Mejía, E., Henao, J., & Mesa, C. (2015). Calf's sex, parity and the hour of harvest after calving affect colostrum quality of dairy cows grazing under high tropical conditions. *Tropical animal health and production*, 47, 699-705.
- Aydogdu, U., & Guzelbektes, H. (2018). Effect of colostrum composition on passive calf immunity in primiparous and multiparous dairy cows. *Veterinárni medicína*, 63(1).
- Brereton, N., McGee, M., Beltman, M., Byrne, C. J., Meredith, D., & Earley, B. (2024). Effect of suckler cow breed type and parity on the development of the cow-calf bond post-partum and calf passive immunity. *Irish Veterinary Journal*, 77(1), 13.
- Buczinski, S., Gicquel, E., Fecteau, G., Takwoingi, Y., Chigerwe, M., & Vandeweerd, J. M. (2018). Systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum refractometry and brix refractometry for the diagnosis of inadequate transfer of passive immunity in calves. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(1), 474-483.
- Chegini, A., Zadeh, N. G. H., & Moghadam, H. H. (2015). Effect of calf sex on some productive, reproductive and health traits in Holstein cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(2), 2.
- Duncan, N. B., Stoecklein, K. S., Foote, A. P., & Meyer, A. M. (2023). Dam parity affects fetal growth, placental size, and neonatal metabolism in spring-born beef calves. *Journal of Animal Science*, 101, skac399.
- Gillespie, A. V., Ehrlich, J. L., & Grove-White, D. H. (2017). Effect of calf gender on milk yield and fatty acid content in Holstein dairy cows. *PLoS one*, 12(1), e0169503.
- Godden, S. (2008). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 19-39.
- Kappes, R., Schneider, V., Schweizer, H., Nüske, S., Knob, D. A., Neto, A. T., & Scholz, A. M. (2023). Effect of  $\beta$ -casein A1 or A2 milk on body composition, milk intake, and growth in Holstein, Simmental, and crossbred dairy calves of both sexes. *Journal of Dairy Science*, 107(6), 4033-4044.
- Kertz, A. F., Reutzell, L. F., Barton, B. A., & Ely, R. L. (1996). Body weight, body condition score, and wither height of prepartum Holstein cows and birth weight and sex of calves by parity: A database and summary. *Journal of dairy science*, 80(3), 525-529.

- Long, J. M., Trubenbach, L. A., Pryor, J. H., Long, C. R., Wickersham, T. A., Sawyer, J. E., & Satterfield, M. C. (2021). Maternal nutrient restriction alters endocrine pancreas development in fetal heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, *74*, 106580.
- López Valiente, S., Rodríguez, A. M., Long, N. M., Quintans, G., Miccoli, F. E., Lacau-Mengido, I. M., & Maresca, S. (2021). Age at first gestation in beef heifers affects fetal and postnatal growth, glucose metabolism and IGF1 concentration. *Animals*, *11*(12), 3393.
- McGee, M., & Earley, B. (2019). passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, *13*(4), 810-825.
- McGee, M., Drennan, M. J., & Caffrey, P. J. (2006). Effect of age and nutrient restriction pre partum on beef suckler cow serum immunoglobulin concentrations, colostrum yield, composition and immunoglobulin concentration and immune status of their progeny. *Irish journal of agricultural and food research*, 157-171.
- Meyer, A. M., & Redifer, C. A. (2024). The curse of the firstborn: Effects of dam primiparity on developmental programming in ruminant offspring. *Animal Reproduction Science*, *265*, 107469.
- Morrill, K. M., Polo, J., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J., & Tyler, H. (2013). Estimate of serum immunoglobulin G concentration using refractometry with or without caprylic acid fractionation. *Journal of dairy science*, *96*(7), 4535-4541.
- Mugnier, A., Pecceu, K., Schelcher, F., & Corbiere, F. (2020). A parallel evaluation of 5 indirect cost-effective methods for assessing failure of passive immunity transfer in neonatal calves. *JDS communications*, *1*(1), 10-14.
- Quaresma, M., Rodrigues, M., Medeiros-Sousa, P., & Martins, A. (2020). Calf-sex bias in Holstein dairy milk production under extensive management. *Livestock Science*, *235*, 104016.
- Smith, M. W. (1985). Expression of digestive and absorptive function in differentiating enterocytes. *Annual review of physiology*, *47*(1), 247-260.
- Turini, L., Conte, G., Bonelli, F., Sgorbini, M., Madrigali, A., & Mele, M. (2020). The relationship between colostrum quality, passive transfer of immunity and birth and weaning weight in neonatal calves. *Livestock Science*, *238*, 104033.
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of veterinary internal medicine*, *14*(6), 569-577.
- Yehia, S. G., Ramadan, E. S., Megahed, E. A., & Salem, N. Y. (2020). Effect of parity on metabolic and oxidative stress profiles in Holstein dairy cows. *Veterinary World*, *13*(12), 2780.

## **CAPÍTULO 1- Acurácia diagnóstica de métodos indiretos para avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos (Manuscrito em preparação)**

### **RESUMO**

Marcos, Naiara Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2024. **Acurácia diagnóstica de métodos indiretos para avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos.** Orientadora: Luciana Navajas Rennó.

Avaliação da imunidade é essencial para a manutenção da saúde e desempenho dos bezerros. Objetivou-se analisar a acurácia diagnóstica de cinco métodos indiretos capazes de avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos. As concentrações séricas de imunoglobulinas G (IgG) foram determinadas por imunodifusão radial (RID) nos dias 0, 7 e 14 de idade dos bezerros. O refratômetro óptico brix determinou sólidos totais. As concentrações séricas de proteínas totais, albumina e a atividade da  $\gamma$ -glutamil transferase foram determinadas por analisador bioquímico automático. A concentração de globulinas foi calculada por diferença. A sensibilidade (Se) e a especificidade (Es) do teste foram calculadas usando a RID como padrão de referência, com falha de transferência de imunidade passiva definida como IgG <10 g/L. A concentração de globulinas apresentou o melhor desempenho para avaliar a transferência de imunidade passiva (Se = 77,1%; Sp = 88,6% a 3,15 g/dL). Para o refratômetro óptico, a combinação ótima de Se e Sp foi de 8,4% brix (Se = 76,6% e Sp = 77,1%). O refratômetro óptico e as globulinas apresentaram boa acurácia diagnóstica. Do ponto de vista prático, é recomendado o uso do refratômetro brix óptico por apresentar melhor relação custo-benefício em fazenda.

Palavras-chave: imunoglobulina G; imunodifusão radial; globulinas; refratômetro óptico.

## ABSTRACT

Marcos, Naiara Aparecida, M. Sc., Federal University Viçosa, September, 2024. **Diagnostic accuracy of indirect methods for evaluating passive immunity transfer in neonatal beef calves.** Adviser: Luciana Navajas Rennó

Assessment of immunity is essential for maintaining the health and performance of calves. The objective was to analyze the diagnostic accuracy of five indirect methods capable of evaluating passive immunity transfer in neonatal beef calves. Serum immunoglobulin G (IgG) concentrations were determined by radial immunodiffusion (RID) on days 0, 7, and 14 of the calves' age. The optical Brix refractometer was used to determine total solids. Serum concentrations of total proteins, albumin, and  $\gamma$ -glutamyl transferase activity were determined by an automatic biochemical analyzer. Globulin concentration was calculated by difference. The sensitivity (Se) and specificity (Sp) of the test were calculated using RID as the reference standard, with failure of passive immunity transfer defined as IgG <10 g/L. Globulin concentration showed the best performance for evaluating passive immunity transfer (Se = 77.1%; Sp = 88.6% at 3.15 g/dL). For the optical refractometer, the optimal combination of Se and Sp was 8.4% Brix (Se = 76.6% and Sp = 77.1%). The optical refractometer and globulins demonstrated good diagnostic accuracy. From a practical standpoint, the use of the optical Brix refractometer is recommended due to its better cost-benefit ratio on farms.

Keywords: immunoglobulin G; radial immunodiffusion; globulins; optical refractometer.

## INTRODUÇÃO

Bezerros neonatos são agamaglobulinêmicos, o que os torna dependentes da transferência de imunoglobulinas por intermédio do consumo do colostro materno. A transferência inadequada de imunidade passiva implica aumento do risco de mortalidade e diminuição da saúde e longevidade de bezerros (Gay, 1983; Weaver et al., 2000). Devido à redução da absorção de imunoglobulinas que ocorre rapidamente após o nascimento (Smith, 1985), é necessário que o consumo de colostro ocorra nas primeiras horas de vida para que a transferência de imunidade passiva seja adequada. Além do intervalo de tempo para consumo do colostro, o impacto negativo na imunidade pode estar também associado à concentração de imunoglobulinas no colostro e ao volume total ingerido pelos bezerros (Stott et al., 1979; Stott e Fellah, 1983; Fischer et al., 2018).

O insucesso na transferência de imunoglobulinas é denominado falha na transferência de imunidade passiva (FTPI; Godden, 2008). Devido aos impactos detrimentais da FTPI em rebanhos bovinos, muitos estudos têm sido realizados com ênfase no valor crítico em que a concentração de IgG sérica em bezerros é adequada ou não para caracterizar essa condição. Tradicionalmente, o ponto de corte de concentração de IgG utilizado para identificar FTPI é 10,0 g/L, mas o limiar sérico de 8,0 g/L também tem sido considerado (Weaver et al., 2000; Dewell et al., 2006; Buczinski et al., 2018). No entanto, estudos foram amplamente conduzidos com bezerros de leite, sendo escassas avaliações desses testes utilizando bezerros de corte, gerando lacunas na aplicação do conhecimento diagnóstico para animais destinados à produção de carne (Gamsjäger et al., 2021). A transferência de imunidade passiva entre bezerros leiteiros e de corte pode ser semelhante, mas diferenças no manejo específico de cada sistema, o consumo variável de colostro e o comportamento natural materno são fatores determinantes para a eficácia dessa transferência imunológica nos rebanhos (Altwater-Hughes et al., 2022).

O método da imunodifusão radial (RID) é considerado como “padrão ouro” para avaliação da IgG sérica em ruminantes (Weaver et al., 2000; Buczinski et al., 2018). No entanto, a RID constitui um método de custo elevado e demorado, pois são necessárias, no mínimo, 24 h para obtenção dos resultados (Morril et al., 2013).

Diante dessas circunstâncias, métodos indiretos para diagnóstico da FTPI em bezerros neonatos têm sido sugeridos, sendo estes, em geral, mais práticos, com rápida obtenção e menor custo. Entre estes destacam-se a refratometria brix e testes realizados em analisador bioquímico que quantificam concentrações séricas de proteínas totais e de suas frações, como as globulinas

e a albumina, e a atividade da  $\gamma$ -glutamil transferase, que estão associados ao conteúdo de IgG sérico (Mugnier et al., 2020; Akkose et al., 2022).

A refratometria brix possui a escala Brix que está relacionada à concentração de açúcar das soluções, de forma que 1% brix equivale a 1 g/dL de sacarose. A percentagem brix de outros fluidos correlaciona-se com o nível de sólidos totais (Son et al., 2009, Buczinski & Vandeweerd, 2016). No caso específico de amostras de sangue de bezerros, este pode ser utilizada para avaliar a FTPI, pois está associada à concentração sérica de proteínas totais (Tyler et al., 1998; Hernandez et al., 2016; Elsohaby et al., 2019; Akkose, Özbeyaz e Buczinsky; 2022).

Portanto, objetivou-se avaliar a acurácia diagnóstica de cinco métodos indiretos tendo como balizamento o método da imunodifusão radial na avaliação da transferência passiva de imunoglobulinas em bezerros de corte neonatos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O protocolo experimental nº 050/2020 foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV). O experimento foi conduzido nas dependências da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

As concentrações de imunoglobulinas G (IgG) obtidas pelo método de imunodifusão radial (RID) foram comparadas com cinco métodos indiretos, que foram a refratometria brix e os métodos de quantificação de proteínas totais, globulinas, albumina e  $\gamma$ - glutamil transferase. Salientamos que o estudo teve como foco a avaliação das técnicas mencionadas anteriormente, utilizando amostras de bezerros de corte em diferentes idades durante o período neonatal para que fossem utilizadas concentrações de IgG que oscilam de níveis baixos a altos, com o intuito de aumentar o coeficiente de variação e, conseqüentemente, aprimorar a precisão e a acurácia dos resultados obtidos.

### *Animais, período experimental e coleta de amostras*

Foram utilizadas 83 amostras de soro de bezerros de corte, Red Angus x Nelore, com idade entre 0 e 14 dias. Considerando o dia 0 como dia do nascimento, amostras de sangue foram coletadas dos animais nos dias 0, 7, 14 para posteriores análises. No dia 0, as amostras foram coletadas da veia jugular de cada bezerro, de forma padronizada entre 12 e 24 horas após a colostragem. Para a realização das coletas, foram utilizados tubos a vácuo com ativador de coágulo e separador em gel (BD Vacutainer® SST® II Advance®, São Paulo, Brasil). Em

sequência, as amostras foram centrifugadas a  $2200 \times g$  por 20 minutos para extração do soro. Uma alíquota de soro foi avaliada imediatamente após a coleta para análise no refratômetro brix e as outras amostras destinadas às demais análises foram armazenadas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises de RID, proteínas totais (PtnT), albumina (Alb) e  $\gamma$ - glutamil transferase (GGT).

#### *Análises laboratoriais*

As análises de IgG foram realizadas pelo método de imunodifusão radial (RID) (Triple J Farms, Washington, EUA). Amostras de soro foram descongeladas à temperatura ambiente. As amostras foram diluídas 1:5 com solução salina para que os diâmetros de precipitina dessas amostras ficassem com valores dentro do intervalo mostrado na tabela de referência do *kit* específico, e posteriormente submetidas à análise. Os kits de teste incluíram três soros de referência com concentrações de IgG conhecidas (nível baixo-280 mg/dl, nível médio-1400 mg/dl e nível alto-2800mg/dl). Cada kit tinha 24 poços (3 poços para o padrão de referência e 21 poços de amostra). Os kits foram armazenados a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  e mantidos a temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  até 30 minutos antes do uso.

O procedimento de ensaio foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante. Os soros de referência e as amostras de soro foram transferidos para os poços das placas RID com pipetas automáticas de  $5\text{ }\mu\text{L}$ . Posteriormente, os kits foram colocados em suas caixas fechados e incubados em uma sala climatizada a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após período de incubação de 24 h, os diâmetros do anel de precipitina foram medidos usando o *software* ImageJ (Java 1.8.0 64-bit) que foi programado para obter sensibilidade de 0,1cm nas circunferências medidas em imagens obtidas de cada kit em formato *Tagged Image File* (TIF). Os diâmetros do anel de precipitina foram então comparados com a curva padrão construída usando as concentrações de IgG do kit de teste de soros de referência.

As percentagens de brix no soro foram quantificadas por intermédio de refratômetro óptico portátil (Instrutherm Modelo RT-30ATC, São Paulo, Brasil). A cada análise o refratômetro era lavado com água destilada e seco com uma toalha de papel. Foi utilizado uma gota de água destilada para calibrar o aparelho e em seguida 1 gota de amostra de soro para medir a % brix de cada amostra.

As concentrações de proteínas totais (método biureto, Bioclin® K031), albumina (método verde bromocresol, Bioclin® K040) e  $\gamma$ - glutamil transferase (método SZASZ Modificado (IFCC), Bioclin® K080) foram quantificadas em analisador bioquímico automático (Mindray, modelo BS200E Shenzhen, China). A concentração de globulinas foi calculada pela diferença entre proteínas totais e albumina.

### *Análises estatísticas*

Todas as análises comparativas foram realizadas definindo-se o método RID como “padrão ouro”, assumindo-se como limite crítico de diagnóstico positivo para a FTPI valores iguais ou superiores a 10 g IgG/L (Weaver et al., 2000).

Os demais métodos foram comparados ao diagnóstico propiciado pela RID variando-se o valor de limite crítico para cada um desses. Para melhor organização avaliativa, o intervalo compreendido entre os valores mínimo e máximo obtidos por cada método foi fracionado em 50 avos. Assim, o valor mínimo obtido foi definido como primeiro limite crítico para diagnóstico e comparado ao diagnóstico dado pelo padrão RID. Sequencialmente, o valor mínimo foi adicionado de 1/50 avo e testado novamente, de forma que cada método foi avaliado quanto a 51 diferentes possíveis valores críticos de diagnóstico. A cada avaliação, uma matriz de confusão foi montada em comparação ao diagnóstico padrão dado pelo método de RID. Este procedimento apresentou uma única exceção, a qual ocorreu para a avaliação do método GGT. Devido à dificuldade de identificação do ponto ótimo de diagnóstico, o intervalo entre 300 e 900 U/L foi refracionado em intervalos de 20 U/L e avaliados como descrito.

A partir de cada matriz de confusão produzida, os seguintes índices foram calculados:

$$VPP = \frac{NPV}{NPV+NPF} \quad (1);$$

$$VPN = \frac{NNV}{NNV+NNF} \quad (2);$$

$$ACU = \frac{NPV+NNV}{NT} \quad (3);$$

$$\text{Sensibilidade} = \frac{NPV}{NPV+NNF} \quad (4);$$

$$\text{Especificidade} = \frac{NNV}{NNV+NPF} \quad (5);$$

em que: VPP é o valor preditivo positivo (adimensional); NPV é o número de diagnósticos positivos verdadeiros; NPF é o número de diagnósticos positivos falsos; NPV é o valor preditivo negativo (adimensional); NNV é o número de diagnósticos negativos verdadeiros; NNF é o número de diagnósticos negativos falsos; ACU é a acurácia (adimensional); e NT é o número total de casos.

A adequação geral de cada método em diagnosticar a FTPI foi mensurada pela construção de gráficos “receiver operating characteristic” (ROC) (Hajian-Tilaki, 2013) em função dos diferentes valores críticos avaliados. A área sob a curva (AUC) foi calculada por intermédio de integração numérica usando aproximação pelo método do polígono.

A adequação de cada limite crítico em cada método indireto foi diagnosticada por intermédio da maximização da distância de Youden (Hajian-Tilaki, 2013), a qual é dada por:

$$YD = \text{Sensibilidade} + \text{Especificidade} - 1 \quad (6);$$

em que: YD é a distância de Youden (adimensional). Os demais termos foram previamente descritos.

De forma auxiliar ao diagnóstico dado pela distância de Youden, nós quantificamos o coeficiente kappa de Cohen, dado por:

$$\kappa = \frac{2 \times (NVP + NVN - NFN \times NFP)}{(NVP + NFP) \times (NFP + NVN) + (NVP + NFN) \times (NFN + NVP)} \quad (7).$$

O coeficiente de correlação produto-momento de Pearson (r) foi calculado entre a concentração de IgG medida pelo RID e cada método indireto de avaliação da concentração de IgG. A “força” da correlação foi interpretada segundo as diretrizes descritas por Mukaka (2012), as quais definem: Correlações de 0,90 a 1,00 – muito alta (valores positivos ou negativos); correlações de 0,70 a 0,90 – alta (valores positivos ou negativos); correlações de 0,50 a 0,70 – moderada (valores positivos ou negativos); correlações de 0,30 a 0,50 – baixa (valores positivos ou negativos) e correlações de 0,0 a 0,30 – insignificante (valores positivos ou negativos).

## RESULTADOS

As estatísticas descritivas da imunodifusão radial (RID), refratometria Brix (%brix), globulinas (Glob), proteínas totais (PtnT), albumina (Alb) e  $\gamma$ - glutamil transferase (GGT) foram calculadas (Tabela 1). Do total de amostras, 34 (41%) apresentaram concentrações de IgG <10g/L indicando FTPI. Os resultados de todos os métodos indiretos foram significativamente correlacionados com concentrações de IgG avaliadas por RID ( $p < 0.01$ ). Segundo as definições de Mukaka (2012), a correlação do refratômetro brix com o RID foi considerada moderada ( $r = 0.69$ ), das globulinas e proteínas consideradas altas ( $r = 0,76$  e  $r = 0,74$ )

e para albumina e  $\gamma$ - glutamil transferase as correlações foram consideradas baixas ( $r=-0,49$  e  $r=0,42$ ) (Tabela 1).

As características do teste diagnóstico de cada método indireto para avaliação de FTPI com pontos de corte ideais são descritas na Tabela 2. De acordo com as diretrizes de Landis e Koch (1977), a concordância entre o método RID de referência com a concentração de globulinas foi “substancial” ( $\kappa= 0.64$ ) e foi considerada como moderada ( $\kappa$  variando de 0.44 a 0.53) nos pontos de corte selecionados para Brix, TP, Alb e GGT (Tabela 2).

Para %brix, a combinação ótima de Se e Sp foi de 8.4% Brix (Se = 76.6% e Sp = 77.1%; AUC= 81.4%). A concentração de globulinas apresentou o melhor desempenho entre os outros métodos para identificar falha na transferência de imunidade passiva (Se = 77.1%; Sp = 88.6%; AUC= 83.4% a 3.15 g/dL). Para proteínas totais, albumina e  $\gamma$ -glutamil transferase, a combinação ótima de Se e Sp e pontos de cortes ideais foram de 75 e 77.1%, AUC= 84.2% a 58.9 g/L; 72 e 78.8 %, AUC=78.3% a 27.65 g/L e 72.9 e 71.4%, AUC= 72.9% a 500 U/L respectivamente. A acurácia diagnóstica para refratometria brix, globulinas, proteínas totais,  $\gamma$ - glutamil transferase e albumina foram 0.768, 0.819, 0.759, 0.735 e 0.723 respectivamente (Figura 1 e Tabela 2).

## DISCUSSÃO

Este estudo examinou o desempenho diagnóstico de cinco métodos indiretos utilizados para avaliar o diagnóstico de transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos.

A refratometria brix (brix), globulinas (Glob) e Proteínas totais (PTnT) obtiveram um bom desempenho para AUC (acima de 0,80) em relação aos testes realizados. Segundo Kumar e Indrayan (2011), a AUC é uma medida eficaz e combinada de sensibilidade e especificidade que descreve a validade inerente dos testes diagnósticos, o que mostra que os testes citados possuem a capacidade preditiva de discriminar FTPI em bezerros.

A medição indireta de IgG com um refratômetro brix permite uma avaliação rápida e fácil da imunidade de bezerros neonatos em fazenda e fornece resultados confiáveis ao produtor. Neste estudo, as medidas de refratometria brix foram significativamente correlacionadas com os valores RID. Este achado é semelhante a relatos anteriores dessas medidas realizadas em soro de bezerros de origem leiteira (Morril et al., 2013; Thornhill et al., 2015), bezerros de corte

(Pisello et al., 2021; Gamsjäger et al., 2021) ou bezerros de ambas as atividades de produção (Mugnier et al., 2020). Essas informações demonstram que a refratometria brix possui capacidade de estimar a concentração de IgG sérica determinada por imunensaio. A análise ROC definiu um limiar Brix de 8,4% para detectar FTPI quando foi utilizado um limiar de IgG sérico de 10 g/L, valores esses semelhantes (Todd et al., 2018; Mugnier et al., 2020) ou próximos aos encontrados em outros estudos (Elsohaby, McClure e Keefe, 2015; Pisello et al., 2021). No entanto, esse ponto de corte é maior do que o determinado por Gamsjäger et al. (2021) para identificar FTPI em bezerros de corte, que encontrou um valor de %brix de 7,9%.

O método de quantificação das globulinas obteve o melhor desempenho dentre os outros métodos de comparação com o RID, o que corrobora com as avaliações realizadas por Mugnier et al. (2020). Segundo Garry et al. (1993), o ponto de corte ideal que indicaria FTPI (IgG<10,0 g/L) baseado nas concentrações séricas de globulinas seria de 20,0 a 25,0 g/L. O limiar obtido neste estudo foi mais alto do que o relatado (31,5 g/L). Todd et al. (2018), em um estudo observacional, relataram que bezerros de corte com concentração sérica de globulinas com limiar  $\leq 32$ g/L apresentaram 6,3 vezes mais chance de apresentarem doença respiratória bovina (DRB) até um mês de vida e 3,4 vezes mais chance de mortalidade até os 6 meses de idade. O limiar encontrado por esses autores para níveis séricos de globulinas que caracterizam FTPI em bezerros de corte estão em consonância com o ponto de corte obtido no presente estudo.

As proteínas séricas totais são um bom indicativo das concentrações de imunoglobulinas no sangue de bezerros neonatos, uma vez que as imunoglobulinas são a principal classe de proteínas séricas que aumentam os seus níveis significativamente após a ingestão e absorção do colostro (Naylor e Kronfeld., 1977; Hopkins et al.,1984). Neste estudo foi utilizado um analisador automático bioquímico para obter os valores referentes a proteínas totais, diferente de outros estudos que utilizaram como método de obtenção das proteínas totais séricas o refratômetro óptico ou digital para proteínas totais (Deelen et al., 2014; Elsohaby et al.,2015; Pisello et al.,2021; Akköse et al.,2023). Nesses relatos, os pontos de corte para identificar FTPI foram iguais ou próximos a 52 g/L, limiar ligeiramente mais baixo do que o descrito neste estudo (58,9 g/L). Mugnier et al. (2020) avaliaram os níveis de proteínas totais séricas por refratometria óptica e pelo analisador bioquímico e também encontraram limiares maiores de proteínas totais medidas no analisador bioquímico em relação ao refratômetro. Isso demonstra que ao avaliar resultados de experimentos anteriores é recomendado observar a metodologia adotada para fins de comparações confiáveis.

As concentrações de albumina foram negativamente correlacionadas com o RID. Os níveis de albumina tendem a ser constantes em bezerros recém-nascidos, mesmo com absorção do colostro, pois a albumina participa da manutenção da pressão osmótica e do transporte de metabólitos, fundamentais para a sobrevivência desses animais (Kaneko et al., 2008; Elsohaby et al., 2019b), o que permite entender a razão pelo qual a albumina medida por analisador bioquímico não se apresentou como um bom método indireto para estimar IgG neste estudo, uma vez que as concentrações de IgG variam durante o período neonatal (Suh et al., 2003).

As medidas da atividade de GGT tiveram correlações relativamente baixas com o RID. Segundo de Souza et al. (2021), a concentração sérica de GGT não apresentou relação biológica com a concentração de IgG em estudos realizados com bezerros neonatos. Foi observado que a GGT sérica tem correlação com a ingestão de colostro, no entanto, não possibilita uma avaliação precisa da concentração sérica de IgG. Sendo assim, a atividade de GGT não fornece informações diretas sobre a transferência de imunidade passiva (Weaver et al., 2000).

No presente estudo foram utilizadas amostras de bezerros com idades de 0 a 14 dias, o que pode ter influenciado nos resultados para esse método. De acordo com Wilson et al. (1999), o período em que o teste GGT poderia ser utilizado em comparação a concentração de IgG foi estimado em menos de oito dias de idade em bezerros de corte. Hogan et al. (2015) relataram que os níveis de GGT obtiveram o melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade em relação aos outros testes avaliados em amostras de bezerros leiteiros de 1 a 4 dias de idade. No entanto, a atividade de GGT sérica em bezerros neonatos é um bom indicativo apenas de consumo de colostro e não se o colostro é de qualidade, logo, recomenda-se seu uso em situações específicas em que se deseja investigar se houve consumo ou não de colostro pelo animal, pois a atividade enzimática da GGT está altamente correlacionada com a quantidade de colostro consumida (Weaver et al., 2000).

Em função da maioria dos estudos que avaliaram a FTPI terem sido realizados com bezerros em sistemas de produção de leite, este estudo demonstra elevada importância sobre a avaliação de métodos que avaliem a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte, sobretudo em condições tropicais. Altvater-Hughes et al. (2022) sugeriram que a transferência de imunidade passiva entre bezerros de corte e bezerros de leite é similar, no entanto, a transferência adequada pode estar atrelada a diferentes fatores.

Métodos indiretos de avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos são importantes para a avaliação da concentração de IgG sérica, pois além de serem mais rápidos e mais práticos do que os métodos diretos (como o RID), requerem menos recursos financeiros e técnicos, tornando-os mais acessíveis e viáveis para produtores (Mugnier et al., 2020). Além disso, a utilização dessas ferramentas pode fornecer sinais precoces de FTPI, permitindo a adoção de intervenções rápidas para garantir que os bezerros recebam proteção imunológica necessária através de colostro suplementar ou outros cuidados (Gamsjäger et al., 2021; Robbers et al., 2021), com o intuito de reduzir morbidade e mortalidade desses animais.

## CONCLUSÕES

O refratômetro brix óptico e o método de avaliação de globulinas apresentaram o melhor desempenho na avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos. Do ponto de vista prático, é recomendado o uso do refratômetro brix óptico por apresentar melhor relação custo-benefício em nível de fazendas.

## REFERÊNCIAS

- Akköse, M., Buczinski, S., Özbeyaz, C., Kurban, M., Cengiz, M., Polat, Y., Aslan, O. Diagnostic accuracy of refractometry methods for estimating passive immunity status in neonatal beef calves. *Vet. Clin. Pathol.* **2023**; 52, 53–63.
- Akköse, M., Özbeyaz, C., & Buczinski, S. Evaluation of 2 refractometers to estimate different passive immunity status in Simmental dairy calves. *Prev. Vet. Med.* **2022**, 209, 105778.
- Altvater-Hughes, T. E., Hodgins, D. C., Wagter-Lesperance, L., Beard, S. C., Cartwright, S. L., Mallard, B. A. Concentration and heritability of immunoglobulin G and natural antibody immunoglobulin M in dairy and beef colostrum along with serum total protein in their calves. *J. Anim. Sci.* **2022**, 100, skac006.
- Buczinski, S., Gicquel, E., Fecteau, G., Takwoingi, Y., Chigerwe, M., Vandeweerd, J. M. Systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum refractometry and brix refractometry for the diagnosis of inadequate transfer of passive immunity in calves. *J. Vet Intern. Med.* **2018**, 32, 474-483.
- Buczinski, S., & Vandeweerd, J. M. Diagnostic accuracy of refractometry for assessing bovine colostrum quality: A systematic review and meta-analysis. **2016**. *J. Dairy Sci*, 99, 7381-7394.
- Deelen S.M, Ollivett T.L., Haines D.M., Leslie K.E. Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* **2014**, 6,3838-44.
- Denholm, K., Haggerty, A., Mason, C., Ellis, K. Comparison of testing for failure of passive transfer in calf serum using four different testing methods. *Vet. J.* **2022**, 281, 105812.

de Souza, R. S., Dos Santos, L. B. C., Melo, I. O., Cerqueira, D. M., Dumas, J. V., Leme, F. D. O. P., Moreira, T. F.; Meneses, R.M.; Facury-Filho, E. J. Current diagnostic methods for assessing transfer of passive immunity in calves and possible improvements: A literature review. *Animals*. **2021**, *11*(10), 2963.

Dewell, R. D., Hungerford, L. L., Keen, J. E., Laegreid, W. W., Griffin, D. D., Rupp, G. P., Grotelueschen, D. M. Association of neonatal serum immunoglobulin G1 concentration with health and performance in beef calves. *Am. Vet. Med. Assoc.* **2006**, *228*, 914-921.

Elsohaby, I., McClure, J. T., Waite, L. A., Cameron, M., Heider, L. C., Keefe, G. P. Using serum and plasma samples to assess failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *J.Dairy Sci.* **2019**, *102*, 567-577.

Elsohaby I., Mweu M.M., Mahmmud Y.S., McClure J.T., Keefe G.P. Diagnostic performance of direct and indirect methods for assessing failure of transfer of passive immunity in dairy calves using latent class analysis. *Prev. Vet. Med.* **2019b**, *164*,72–77.

Elsohaby I., McClure J.T., Keefe G.P. Evaluation of digital and optical refractometers for assessing failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2015**; *29*:721–726.

Fischer, A. J., Song, Y., He, Z., Haines, D. M., Guan, L. L., Steele, M. A. Effect of delaying colostrum feeding on passive transfer and intestinal bacterial colonization in neonatal male Holstein calves. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 3099-3109.

Gamsjäger, L., Elsohaby, I., Pearson, J. M., Levy, M., Pajor, E. A., Windeyer, M. C. Evaluation of 3 refractometers to determine transfer of passive immunity in neonatal beef calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2021**, *35*, 632-643.

Garry, F.; Adams, R.; Aldridge, B. Role of colostrum transfer in neonatal calf management: current concepts in diagnosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*.**1993**, *15*, 1167-1174.

GAY, C. C. The role of colostrum in managing calf health. In: *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings*, USA, April, 1983; Publisher: Pullman, USA, 79-84.

Godden, S. M. Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin.Food Anim.* **2008**, *24*, 19-39.

Hajian-Tilaki, K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J. Intern. Med.* **2013**,*2*, 62, 627-635.

Hernandez, D., Nydam, D. V., Godden, S. M., Bristol, L. S., Kryzer, A., Ranum, J., Schaefer, D. Brix refractometry in serum as a measure of failure of passive transfer compared to measured immunoglobulin G and total protein by refractometry in serum from dairy calves. *Vet. J.* **2016**, *211*, 82-87.

Hogan, I., Doherty, M., Fagan, J., Kennedy, E., Conneely, M., Brady, P., Ryan, C., Lorenz, I. Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine. *Irish Vet. J.* **2015**, *68*, 1-10.

- Kumar, R., Indrayan, A. Receiver operating characteristic (ROC) curve for medical researchers. *Indian Pediatr.* **2011**, *48*, 277–287.
- Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA. **2008**; ISBN 9780123704917.
- Landis, J. R.; Koch, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* **1977**, *33*, 159-174.
- Morrill, K. M., Polo, J., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J., Tyler, H. Estimate of serum immunoglobulin G concentration using refractometry with or without caprylic acid fractionation. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 4535-4541.
- Mugnier, A., Pecceu, K., Schelcher, F., Corbiere, F. A parallel evaluation of 5 indirect cost-effective methods for assessing failure of passive immunity transfer in neonatal calves. *JDS communications.* **2020**, *1*, 10-14.
- Mukaka, M. M. A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *M. Med. J.* **2012**, *24*(3), 69-71.
- Naylor, J. M.; Kronfeld, D. S. Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: comparison with the zinc sulfate turbidity test and single radial immunodiffusion. *Am. J. Vet. Res.* **1977**, *38*, 1331-1334.
- Pisello, L., Boccardo A., Forte C., Pravettoni D., D'Avino N., Passamonti F., Rueca F. Evaluation of digital and optical refractometers for assessing failure of transfer of passive immunity in Chianina beef–suckler calves reared in Umbria. *I. J. Anim. Sci.* **2021**, *20*, 315-323.
- Robbers, L., Jorritsma, R., Nielen, M., & Koets, A. A scoping review of on-farm colostrum management practices for optimal transfer of immunity in dairy calves. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 668639.
- Sim, J.; Wright, C. C. The kappa statistic in reliability studies: use, interpretation, and sample size requirements. *Phys. Ther.* **2005**, *85*, 257-268.
- Smith, M. W. (1985). Expression of digestive and absorptive function in differentiating enterocytes. In: *Annual review of physiology*, Cambridge CB2 4AT, United Kingdom, *47*, 247-260.
- Son, H. S., Hong, Y. S., Park, W. M., Yu, M. A., Lee, C. H. A novel approach for estimating sugar and alcohol concentrations in wines using refractometer and hydrometer. *J. Food Sci.* **2009**, *74*, C106-C111.
- Stott, G. H., Marx, D. B., Menefee, B. E., Nightengale, G. T. Colostral immunoglobulin transfer in calves I. Period of absorption. *J. Dairy Sci.* **1979**, *62*, 1632-1638.
- Stott, G. H.; Fella, A. Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *J. Dairy Sci.* **1983**, *66*, 1319-1328.
- Suh, G. H., Hur, T. Y., Son, D. S., Choe, C. Y., Jung, Y. H., Ahn, B. S., Lee, C.Y., Lee, C. G. Differences in the serum immunoglobulin concentrations between dairy and beef calves from birth to 14 days of age. *J. Vet. Sci.* **2003**, *4*(3), 257-260.

Thornhill, J. B., Krebs, G. L., Petzel, C. E. Evaluation of the Brix refractometer as an on-farm tool for the detection of passive transfer of immunity in dairy calves. *Aust. Vet. J.* **2015**, *93*, 26-30.

Todd, C. G., McGee, M., Tiernan, K., Crosson, P., O’Riordan, E., McClure, J., Lorenz, I., Earley, B. An observational study on passive immunity in Irish suckler beef and dairy calves: tests for failure of passive transfer of immunity and associations with health and performance. *Prev. Vet. Med.* **2018**, *159*, 182-195.

Tyler, J. W., Hancock, D. D., Wiksie, S. E., Holler, S. L., Gay, J. M., Gay, C. C. Use of serum protein concentration to predict mortality in mixed-source dairy replacement heifers. *J. Vet. Intern. Med.* **1998**, *12*, 79-83.

Weaver, D.M.; Tyler, J.W.; Van Metre, D.C.; Hostetler, D.E.; Barrington, G.M. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2000**, *14*, 569–577.

Wilson, L. K., Tyler, J. W., Besser, T. E., Parish, S. M., Gant, R. Prediction of serum IgG1 concentration in beef calves based on age and serum gamma-glutamyl-transferase activity. *J. Vet. Intern. Med.* **1999**, *13*, 123-125.

## ANEXO A

**Tabela 1.** Estatística descritiva das concentrações sanguíneas obtidas por métodos indiretos de avaliação de IgG em bezerros de corte neonatos

Estatística	Características sanguíneas <sup>1</sup>					
	RID (g/L)	Brix (%)	Glob (g/L)	PtnT (g/L)	Alb (g/L)	GGT (U/L)
Média	10,43	8,57	31,90	59,20	27,0	1265
N	83	82	83	83	83	83
DP	5,20	1,171	9,81	8,52	2,97	163,46
Mínimo	6,25	6,2	8,7	37,3	20,4	18
1 <sup>st</sup> quartil	8,57	7,9	24,8	52,9	24,8	209
Mediana	10,52	8,55	31,4	59,2	27,6	542
3 <sup>rd</sup> quartil	12,97	9,3	39,6	65,0	29,2	1765
Máximo	22,52	11,2	54,0	75,4	32,2	7585
r <sup>2</sup>	-	0,689	0,760	0,740	-0,489	0,422

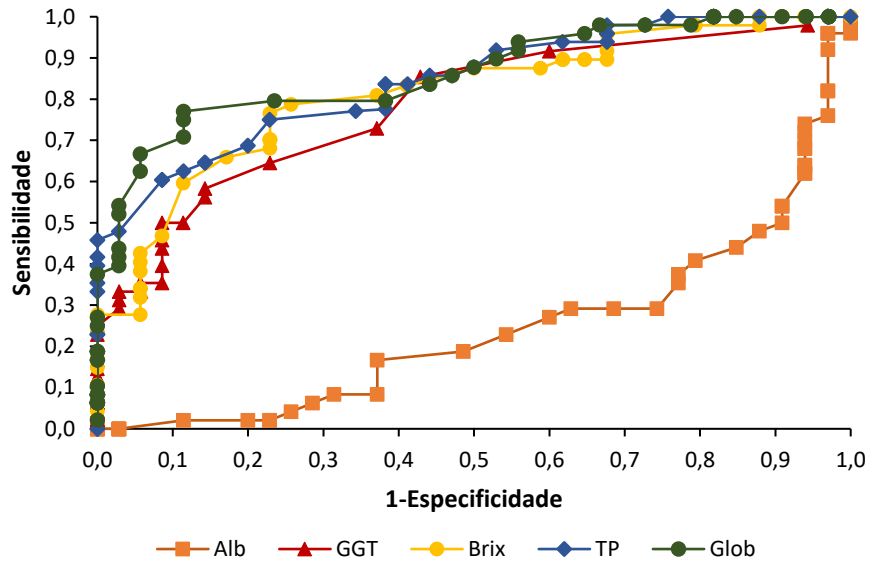
<sup>1</sup>RID: Imunodifusão radial, Brix: Refratômetro Brix; GGT:  $\gamma$ -glutamil transferase; Glob: globulinas, PtnT: Proteínas totais, Alb: Albumina.

<sup>2</sup>Correlações de Pearson entre os diferentes métodos indiretos e o método de imunodifusão radial. Todas as correlações foram diferentes de zero ( $P < 0.01$ ).

**Tabela 2.** Desempenho diagnóstico de método indiretos para avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos de corte, considerando a imunodifusão radial como método de referência

Item	Métodos indiretos				
	Brix	Glob	PtnT	Alb	GGT
	(%)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(U/L)
Ponto de corte ideal para diagnóstico	≥8,4	≥31,50	≥58,90	≥27,65	≥500,0
Sensibilidade	0,766	0,771	0,750	0,720	0,729
Especificidade	0,771	0,886	0,771	0,788	0,714
<sup>1</sup> VPP	0,818	0,902	0,818	0,837	0,778
<sup>2</sup> VPN	0,711	0,738	0,692	0,650	0,658
<sup>3</sup> ACU	0,768	0,819	0,759	0,735	0,723
<sup>4</sup> AUC	0,814	0,834	0,842	0,783	0,729
<sup>5</sup> κ	0,532	0,639	0,513	0,490	0,438

<sup>1</sup>VPP, valor preditivo positivo; <sup>2</sup>VPN, valor preditivo negativo; <sup>3</sup>ACU, acurácia; <sup>4</sup>AUC, área sob a curva para característica operacional do receptor (ROC). Para detalhes, ver Figura 1; <sup>5</sup>κ, Estatística kappa de Cohen não ponderada.



**Figura 1.** Curvas de características operacionais do receptor (ROC) de métodos indiretos utilizados avaliar a transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos, considerando a imunodifusão radial como método de referência.

## **CAPÍTULO 2 - Influência da ordem de parto materna e do sexo na imunidade e respostas ao estresse neonatal em bezerros de corte em pastejo (Manuscrito em preparação)**

### **RESUMO**

Marcos, Naiara Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2024. **Influência da ordem de parto materna e do sexo na imunidade e respostas ao estresse neonatal em bezerros de corte em pastejo.** Orientadora: Luciana Navajas Rennó.

A ordem de parto materna e o sexo do bezerro podem influenciar os bezerros neonatos, ocasionando maior estresse e níveis reduzidos de imunoglobulinas (Ig) no sangue, o que pode comprometer a transferência de imunidade passiva, aumentando a morbidade e mortalidade. Objetivou-se avaliar o efeito da ordem de parto materna e do sexo do bezerro sobre a imunidade e o estresse neonatal de bezerros de corte em pastejo. Foram utilizados bezerros de corte neonatos filhos de vacas Nelore pluríparas (7 fêmeas e 10 machos) e primíparas (8 fêmeas e 7 machos). Coletas de sangue foram realizadas nos dias do nascimento (0), sete (7) e catorze (14) dias de idade para análise de IgG e acréscimo do dia vinte e um (21) para as análises de cortisol, haptoglobina, ceruloplasmina, glicose e albumina. Os dados foram analisados utilizando-se o PROC Mixed do SAS, adotando-se 0,05 como nível crítico e probabilidade para o erro tipo I. Foram analisados os efeitos da ordem de parto materna, sexo do bezerro, idade do bezerro e a interação entre eles. As concentrações de IgG não foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $p > 0,05$ ), sendo semelhantes para bezerros de vacas primíparas e de pluríparas. Os níveis séricos de IgG apresentaram maior concentração no dia do nascimento e diminuíram de acordo com o avanço da idade ( $p < 0,001$ ). Os níveis séricos de albumina aumentaram com o avançar da idade dos animais até os 14 dias de idade ( $p < 0,001$ ). As concentrações de glicose foram influenciadas pela idade dos bezerros com concentração máxima aos sete dias e diminuíram, estabilizando-se aos 14 dias ( $p < 0,001$ ). As concentrações de haptoglobina plasmáticas foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $p < 0,001$ ), em que bezerros de primíparas apresentaram maiores concentrações que os bezerros de pluríparas, contudo, não foram influenciadas pelo sexo do bezerro, dias de vida e suas interações ( $p > 0,05$ ). As concentrações de ceruloplasmina apresentaram interação de sexo com a idade, sendo maiores as concentrações dessa proteína em bezerros machos no dia 14 ( $p < 0,05$ ), e foram afetadas pela idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ) e aumentaram do dia do parto até os 14 dias. Conclui-se que a

ordem de parto materna não afeta os níveis de imunoglobulina G em bezerros neonatos de corte, no entanto, bezerros de vacas primíparas apresentam uma resposta ao estresse mais intensa, especialmente os bezerros machos. Nos níveis de cortisol ( $p > 0,05$ ), houve interação significativa entre ordem de parto materna x sexo do bezerro ( $p < 0,05$ ), sendo que bezerros machos de primíparas obtiveram a maior concentração de cortisol em relação a machos de pluríparas. Os níveis de cortisol foram maiores no dia do nascimento e diminuíram até os 14 dias de idade ( $p < 0,001$ ). Conclui-se que a ordem de parto materna não afeta as concentrações de imunoglobulinas G em bezerros neonatos de corte, No entanto, bezerros de vacas primíparas apresentam uma resposta ao estresse mais intensa, especialmente os bezerros machos.

Palavras-chave: ceruloplasmina; cortisol; haptoglobina; imunoglobulina G; pluríparas; primíparas.

## ABSTRACT

Marcos, Naiara Aparecida, M. Sc., Federal University Viçosa, September, 2024. **Influence of maternal parity and sex on immunity and neonatal stress responses in grazing beef calves.**  
Adviser: Luciana Navajas Rennó

Maternal parity and calf sex can influence neonatal calves, leading to increased stress and reduced levels of immunoglobulins (Ig) in the blood, which may impair the transfer of passive immunity, increasing morbidity and mortality. The objective was to evaluate the effect of maternal parity and calf sex on the immunity and neonatal stress of beef calves on pasture. Neonatal beef calves from multiparous Nelore cows (7 females and 10 males) and primiparous cows (8 females and 7 males) were used. Blood samples were collected on the day of birth (0), seven (7), and fourteen (14) days of age for IgG analysis, with an additional collection on day twenty-one (21) for the analysis of cortisol, haptoglobin, ceruloplasmin, glucose, and albumin. Data were analyzed using PROC Mixed in SAS, with 0.05 adopted as the critical level of probability for type I error. The effects of maternal parity, calf sex, calf age, and their interactions were analyzed. IgG concentrations were not influenced by maternal parity ( $p > 0.05$ ), being similar for calves from primiparous and multiparous cows. Serum IgG levels were highest on the day of birth and decreased with age ( $p < 0.001$ ). Serum albumin levels increased with age up to 14 days ( $p < 0.001$ ). Glucose concentrations were influenced by calf age, peaking at seven days and decreasing, stabilizing at 14 days ( $p < 0.001$ ). Plasma haptoglobin concentrations were influenced by maternal parity ( $p < 0.001$ ), with calves from primiparous cows showing higher concentrations than those from multiparous cows; however, they were not influenced by calf sex, days of life, or their interactions ( $p > 0.05$ ). Ceruloplasmin concentrations showed a sex by age interaction, with higher levels in male calves on day 14 ( $p < 0.05$ ), and were affected by calf age ( $p < 0.001$ ), increasing from the day of birth to 14 days. It was concluded that maternal parity does not affect immunoglobulin G levels in neonatal beef calves; however, calves from primiparous cows exhibit a more intense stress response, especially male calves. Regarding cortisol levels ( $p > 0.05$ ), there was a significant interaction between maternal parity and calf sex ( $p < 0.05$ ), with male calves from primiparous cows having higher cortisol concentrations compared to males from multiparous cows. Cortisol levels were higher on the day of birth and decreased until 14 days of age ( $p < 0.001$ ). It was concluded that maternal parity

does not affect immunoglobulin G concentrations in neonatal beef calves; however, calves from primiparous cows exhibit a more intense stress response, especially male calves.

Keywords: ceruloplasmin; cortisol; haptoglobin; immunoglobulin G; multiparous; primiparous.

## INTRODUÇÃO

Bezerros neonatos são agamaglobulinêmicos, com baixas concentrações de imunoglobulinas no sangue, devido à ausência de anticorpos placentários. A ingestão de colostro materno é fundamental para fornecer imunoglobulinas e compostos essenciais à sobrevivência e maturação intestinal. (Godden et al., 2019; Osorio, 2020).

Estudos indicam que vacas primíparas de leite produzem colostro de qualidade inferior, impactando a imunidade passiva dos bezerros (Aydogdu e Guzelbektes, 2018, Turini et al., 2020; Brereton et al., 2024). Em vacas de corte, há poucas informações sobre a influência da ordem de parto na qualidade do colostro e na transferência de imunidade passiva, mas a composição entre primíparas e pluríparas parece ser semelhante (McGee e Earley, 2019; Altvater-Hughes et al., 2022). No entanto, mais pesquisas são necessárias para entender como a idade materna afeta o status de imunidade passiva em bezerros de corte.

O período neonatal é marcado por múltiplos estressores que aumentam a suscetibilidade a doenças e podem impactar negativamente na capacidade de recuperação dos bezerros (Hammon et al.; 2012; Murray e Leslie, 2013 e Aleri et al., 2016). A ordem de parto pode influenciar significativamente a distribuição de nutrientes pré e pós-natal para a progênie e aumentar o estresse durante o período perinatal, sendo a primeira gestação a que mais impacta negativamente diferentes biomarcadores nessa fase, afetando tanto as mães quanto seus filhos, que respondem de maneira distinta aos agentes estressores (Meyer e Redifer et al., 2024). Alguns relatos na literatura demonstraram o efeito negativo da primiparidade sobre o estresse materno, mas poucos estudos avaliaram como esses efeitos influenciam a prole, concentrando-se mais frequentemente no peso ao nascimento (Mc Gee et al., 2006; Yehia et al., 2020; Croft, 2022; Duncan et al., 2023).

Embora muitos estudos sobre estresse em bovinos tenham focado em aspectos como estresse térmico (Wright et al., 2014; Cartwright et al., 2023), transporte (Zavy et al., 1992; Meléndez et al., 2021) e desmame (Price et al., 2003; de Paula et al., 2023), há poucas informações sobre o estresse em bezerros no período neonatal, especialmente quanto à influência materna e à ordem de parto. Além disso, é necessário investigar o impacto do sexo do bezerro na imunidade e no estresse neonatal, considerando que a produção e composição do colostro variam entre mães de bezerros machos e fêmeas, o que pode influenciar a resposta imunológica e ao estresse da progênie (Angulo et al., 2015).

Nesse contexto, a hipótese deste estudo é que a ordem de parto materna e o sexo do bezerro têm influência na transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos, além de afetar o estresse desses animais nesse período. Objetivou-se avaliar o efeito da ordem de parto materna e do sexo do bezerro sobre a imunidade e o estresse neonatal de bezerros de corte Red Angus x Nelore em pastejo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental nº 050/2020 foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV). O experimento foi conduzido nas dependências da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

### *Animais e delineamento experimental*

Foram utilizados 32 bezerros Red Angus x Nelore, provindos de 32 vacas Nelore, sendo 17 pluríparas (7 fêmeas e 10 machos) e 15 primíparas (8 fêmeas e 7 machos). O experimento foi conduzido de acordo com um delineamento inteiramente casualizado. Anteriormente ao nascimento dos bezerros, as mães foram alocadas aleatoriamente em 8 piquetes cobertos com capim *Urochloa decumbens* (área média de 8,6 ha/piquete) e providos de bebedouro e comedouro 60 dias antes do parto para adaptação ao ambiente e interações sociais, sendo que em cada piquete haviam vacas primíparas e pluríparas. As fêmeas foram suplementadas no terço final da gestação com 1 kg/animal/dia até o parto. O suplemento foi composto de farelo de soja, fubá de milho e ureia, com 35% de proteína bruta com base na matéria seca. Após o parto, as vacas com seus respectivos bezerros foram mantidas nos mesmos piquetes, constituindo assim, os tratamentos experimentais. Não foram observadas dificuldades das vacas em relação ao parto e dessa maneira consideramos que os partos foram considerados eutócicos.

As avaliações nos bezerros ocorreram desde o nascimento até 21 dias de idade, com coletas realizadas a cada sete dias. O peso corporal dos bezerros ao nascimento foi em média,  $35,65 \pm 1,35$  kg e  $30,29 \pm 1,28$  kg para bezerros filhos de pluríparas e de primíparas;  $33,24 \pm 1,41$  e  $32,71 \pm 1,22$  para machos e fêmeas, respectivamente. Após o nascimento foram realizados os procedimentos iniciais com os bezerros como cura do umbigo, identificação com o uso de brincador, pesagem e coletas de sangue.

### *Coletas e análises laboratoriais*

Considerando o dia 0 como dia do nascimento, amostras de sangue foram coletadas dos animais nos dias 0, 7, 14 para as análises de IgG e com acréscimo do dia 21 para as demais análises. No dia 0, as amostras foram coletadas de forma padronizada entre 12 e 24 horas após o nascimento. Esse manejo foi adotado para não interferir no vínculo materno das vacas e garantir que os bezerros pudessem ser conduzidos até o curral onde as coletas foram realizadas, visto que estavam em área de pastejo. Próximo a data prevista para o parto, foram realizadas rondas matinais e vespertinas para monitorar o processo de parto das vacas. Foi estabelecido que, nos bezerros nascidos de manhã, as coletas seriam realizadas no final da tarde do mesmo dia. Para os nascidos à tarde e à noite, as coletas ocorreram nas primeiras horas da manhã do dia seguinte.

As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular, utilizando tubos com gel separador de soro (BD Vacutainer® SST® II Advance®, São Paulo, Brasil) para análise de imunoglobulinas G, albumina e cortisol e tubos com anticoagulante para análises de glicose (BD Vacutainer® Fluoretado/EDTA, São Paulo, Brasil), ceruloplasmina e haptoglobina (BD Vacutainer® Plus com Heparina, São Paulo, Brasil). Após as coletas, os tubos foram centrifugados a  $2200 \times g$  por 20 min, para a obtenção do plasma e soro, imediatamente transferidos para eppendorfs e armazenados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises.

As análises de IgG foram realizadas pelo método de imunodifusão radial (RID) (Triple J Farms, Washington, EUA). Amostras de soro foram descongeladas à temperatura ambiente. As amostras foram diluídas 1:5 com solução salina para que os diâmetros de precipitina dessas amostras ficassem com valores dentro do intervalo mostrado na tabela de referência, e posteriormente submetidas à análise. Os kits de teste foram armazenados a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  e mantidos a temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  até 30 minutos antes do uso. Os kits de teste incluíram três soros de referência com concentrações de IgG conhecidas (nível baixo-280 mg/dL, nível médio-1400 mg/dL e nível alto-2800mg/dL). Cada kit continha 24 poços (3 poços para o padrão de referência e 21 poços para as amostras).

As concentrações sanguíneas as concentrações séricas de albumina (método verde bromocresol, Bioclin® K040) e de glicose (método enzimático colorimétrico, Bioclin® K082) foram quantificadas em analisador bioquímico automatizado (Mindray, BS200E, Shenzhen, China).

As concentrações de haptoglobina foram determinadas medindo o complexo haptoglobina-hemoglobina estimando as diferenças na atividade da peroxidase (Makimura e

Suzuki, 1982) e os resultados foram expressos em densidade óptica, resultante da leitura a 450 nm x 100 (Cooke e Arthington, 2013).

A análise de ceruloplasmina foi realizada de acordo com os procedimentos colorimétricos descrito por Demetrius et al. (1974), expressa em mg/dL.

As concentrações séricas de cortisol foram detectadas pelo método quimioluminescente (Beckman Coulter®, 33600, Brea, CA, EUA) utilizando o sistema analisador Access® 2 (Beckman Coulter®, Brea, CA, EUA).

#### *Análises estatísticas*

As variáveis-resposta foram avaliadas segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + e(i)j + \varepsilon(ij)k$$

Em que  $Y_{ijk}$  = Observações no animal  $k$  dentro do piquete  $j$ , submetido ao tratamento  $i$ ;  $i$  = o tratamento que inclui a ordem de parto materna e o sexo do bezerro;  $\mu$  é a constante geral;  $T_i$  = Efeito fixo do tratamento  $i$ ;  $e(i)j$  = Efeito aleatório do piquete  $j$  aninhado ao tratamento  $i$ ; assumido como NIID (0,  $\sigma^2 \varepsilon$ );  $\varepsilon(ij)k$  = Efeito aleatório de erro associado a cada observação  $k$ , assumido como NIID (0,  $\sigma^2 \varepsilon$ ). Todos os dados foram analisados como um planejamento fatorial  $2 \times 2$  usando o piquete como unidade experimental. As declarações do modelo continham os efeitos da ordem de parto materna e do sexo e a interação entre eles (ordem de parto materna  $\times$  sexo). Todas as variáveis-resposta foram interpretadas como medidas repetidas de acordo com os dias de avaliação em torno da idade do bezerro (efeito fixo). A escolha da melhor estrutura da matriz de (co)variância foi baseada no menor valor do critério de informação de Akaike. A normalidade dos dados foi obtida testando a distribuição dos resíduos, utilizando o teste de Shapiro-Wilk do PROC UNIVARIATE do SAS (Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Os graus de liberdade foram estimados usando o método de Kenward-Roger. As análises foram realizadas usando PROC MIXED no SAS 9.4 (Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Todas as avaliações estatísticas foram realizadas considerando 0,05 como nível crítico de probabilidade para ocorrência do erro tipo I.

## RESULTADOS

As concentrações de imunoglobulinas G, glicose e albumina não foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $p > 0,05$ ), assim como o sexo, a interação entre sexo e ordem de parto, sexo e idade, ordem de parto materna e sexo, ordem de parto materna e idade, e interação entre ordem de parto materna, sexo e idade ( $p > 0,05$ ; Tabela 1).

No entanto a idade afetou os níveis de IgG ( $p < 0,001$ ), tendo maiores concentrações no dia 0 e diminuição dos seus níveis com o avanço da idade dos animais. (Figura 1-A). Os níveis séricos de albumina aumentaram com o avanço da idade dos animais ( $p < 0,001$ ), estabilizando aos 21 dias. (Figura 1-B). As concentrações plasmáticas de glicose também foram afetadas pela idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ), a qual apresentou pico aos 7 dias de idade dos animais, diminuiu aos 14 dias e permaneceu inalterada até o dia 21. (Figura 1-C).

Bezerros de primíparas apresentaram maiores níveis de haptoglobina ( $p < 0,001$ ). O sexo dos bezerros, idade e as interações entre os efeitos não afetaram os níveis de haptoglobina ( $p > 0,05$ ; Tabela 1).

Houve uma interação entre sexo do bezerro e idade ( $p < 0,05$ ; Tabela 1) para a concentração de ceruloplasmina, em que no dia 14 os bezerros machos apresentaram maiores concentrações em relação às bezerras fêmeas. A idade dos bezerros influenciou as concentrações de ceruloplasmina ( $p < 0,001$ ), apresentando aumento com o avanço da idade dos animais. (Tabela 1; Figura 2).

Os níveis de cortisol não foram influenciados pela ordem de parto materna ou pelo sexo do bezerro ( $p > 0,05$ ), no entanto, houve interação entre ordem de parto materna e sexo ( $p < 0,05$ ), em que bezerros machos filhos de primíparas apresentaram maiores níveis em relação aos bezerros machos filhos de pluríparas (Figura 3-A). As concentrações de cortisol foram influenciadas pela idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ), sendo maiores no dia 0 e diminuindo com o avançar da idade, estabilizando-se aos 14 dias. (Figuras 3-B).

## DISCUSSÃO

No presente estudo foram investigados os efeitos da ordem de parto materna e do sexo do bezerro sobre a imunidade e metabólitos relacionados ao estresse de bezerros de corte no período neonatal. A compreensão de como esses fatores influenciam o desenvolvimento e a saúde dos bezerros na fase de pré-desmame é essencial para melhorar a produtividade de bovinos de corte.

A transferência de imunidade passiva adequada é afetada por vários fatores, como o momento adequado de sucção do colostro, o volume e qualidade do colostro ingerido e a capacidade absorção intestinal nas primeiras 24 horas de vida (Weaver et al., 2000; McGee e Earley, 2019). As concentrações de imunoglobulinas G em bezerros neonatos não apresentaram diferenças significativas para bezerros filhos de primíparas e bezerros filhos de pluríparas. Assim como o nosso estudo, foram relatadas diferenças significativas nas concentrações de IgG de bezerros de corte filhos de mães de diferentes ordens de parto (Costa et al., 2008; Rocha et al., 2012). No entanto, outros estudos que avaliaram transferência de imunidade passiva em bezerros de corte relataram concentrações de IgG maiores em bezerros de pluríparas (Waldner e Rosengren, 2009; Hickson et al., 2016; Brereton et al., 2024).

Em estudo recente realizado por Altvater-Hughes et al. (2023), foi relatado que as concentrações de IgG no colostro de vacas de corte de primíparas e pluríparas é similar. De fato, alguns estudos demonstraram que as concentrações de IgG no colostro de vacas de corte de diferentes ordens de parto não variaram, pois ao contrário das vacas de leite, estas produzem menor volume de colostro e a concentração de IgG tende a ser maior, (Guy et al., 1994; McGuirk e Collins, 2004), o que pode afetar a concentração de IgG sérica em bezerros de corte logo após o consumo de colostro, a depender, nessas circunstâncias, do volume de colostro produzido pelas mães e do volume ingerido pelos bezerros. Neste estudo não foi avaliado o colostro devido às dificuldades com o manejo de coleta, uma vez que estes animais foram mantidos à pasto, e devido à importância de não romper o vínculo vaca-bezerro nessas primeiras horas após o nascimento. Porém, diante das informações citadas acima, podemos sugerir que os bezerros adquiriram transferência de imunidade passiva adequada, verificada pelos níveis semelhantes de IgG séricas, e que, as vacas primíparas e pluríparas produziram qualidade e volume de colostro adequados para atender a demanda de seus filhos. Também sugerimos que a capacidade de absorção intestinal das imunoglobulinas G foi bem sucedida em bezerros de primíparas, uma vez que é mencionado que filhos de primíparas estão mais propensos a fatores de risco que implicam em menor absorção de anticorpos pelo intestino (Norman e

Hohenboken,1981; Machado Neto et al.,1997), o que provavelmente não ocorreu em nosso estudo.

Os níveis de IgG foram maiores no dia do nascimento e diminuíram com os dias referentes ao nascimento. Esses resultados corroboram com (Suh et al., 2003; Zwierzchowski et al., 2020). O pico de concentração de IgG é atingido aproximadamente 24 horas após o nascimento e diminui progressivamente com o tempo como resultado do catabolismo, o que está de acordo com o nosso estudo (Logan et al.,1974; Suh et al., 2003).

Huber et al. (2020) definem o estresse simplesmente como a ativação de sistemas conservados de resposta ao estresse (respostas neuroendócrinas, endócrinas e metabólicas) à estímulos nocivos ou estressores para manter ou recuperar a homeostase. O estresse vivenciado pela progênie é normalmente causado por alterações metabólicas e imunológicas enfrentadas pela mãe (Dauby et al., 2012; Huber et al., 2022). A ordem de parto materna pode influenciar negativamente indicadores metabólicos de estresse em bezerros neonatos, que possivelmente está relacionado a inexperiência fisiológica das mães de primeiro parto (Duncan et al.,2023; Redifer e Meyer,2024).

As concentrações de albumina não foram afetadas pela ordem de parto materna e sexo dos bezerros, no entanto, Seppa-Lassila et al. (2017) encontraram menores valores de albumina em bezerros machos da raça Hereford, o que apontou um maior estresse em animais machos, uma vez que a albumina é uma proteína de fase aguda negativa que apresenta diminuição dos seus níveis quando ocorre um processo de inflamação (Petersen et al., 2004). Apesar de não ter ocorrido efeitos do sexo nessa proteína de fase aguda, encontramos maiores níveis de cortisol em bezerros machos de primíparas, o que sugere maior estresse ocorrido nesses animais. O comportamento dos níveis de albumina com a idade foi semelhante em estudos realizado com bezerros de leite e de corte (Seppa-Lassila et al., 2017; Peetsalu et al., 2022). As concentrações de albumina aumentam após o consumo do colostro e tem aumento gradual até um mês de vida do bezerro, participando da manutenção da pressão osmótica e do transporte de metabólitos (Kaneko et al., 2008; Tóthová et al.,2015).

O metabolismo energético neonatal, especialmente o metabolismo da glicose, desempenha um papel crucial durante o período perinatal na adaptação dos bezerros aos novos desafios ambientais e nutricionais (Hammon et al.,2012). Neste estudo, a glicose plasmática não foi afetada pela ordem de parto e apresentou maiores concentrações aos 7 dias de idade. A

gliconeogênese é essencial para cobrir as necessidades de glicose em neonatos. O declínio hepático do glicogênio ocorre logo após o nascimento e concomitantemente ocorre o aumento nas atividades da enzima G6Pase que favorece a conversão de glicose-6-fostato em glicose e promove a liberação da glicose na circulação sanguínea (Böhme et al., 1983; Van Schaftingen e Gerin, 2002). Dessa forma, devido à atividade da G6Pase, as concentrações de glicose atingem o pico alguns dias após o nascimento e permanecem relativamente constantes até a idade adulta, o que corrobora com os resultados obtidos neste estudo para bezerros de ordens de parto distintas (Hammon et al., 2012).

A haptoglobina é uma proteína de fase aguda utilizada em estudos que avaliam o estresse em bovinos, pois suas concentrações aumenta durante processos inflamatórios, refletindo a resposta do organismo ao estresse (Arthington, 2012). Nossos resultados indicam que bezerros de primíparas tiveram maiores concentrações de haptoglobina no sangue em relação aos bezerros de pluríparas, logo, estressaram em maior magnitude, uma vez que o estresse físico ou trauma após o parto causa aumento em proteínas de fase aguda e a haptoglobina é a principal proteína de fase aguda em ruminantes (Marchini et al., 2000; Arthington et al., 2012). A haptoglobina aumenta significativamente em situações de estresse agudo e atua como um imunomodulador, ajudando a mediar a resposta inflamatória e a proteger os tecidos do dano causado pelo estresse oxidativo, o que a torna um bom indicador de bem estar animal em bovinos (Lomborg et al., 2008). As concentrações de haptoglobina não sofreram mudanças significativas com o aumento da idade dos bezerros, corroborando com os achados de Seppa-Lassila et al. (2017).

As concentrações de ceruloplasmina foram menores no dia do nascimento e aumentaram com o avanço da idade dos animais, comportamento este semelhante ao relatado por Tóthová et al. (2015), que obteve o menor valor de concentração de ceruloplasmina no dia do nascimento avaliando bezerros do nascimento até 30 dias de idade. Um aumento na atividade de ceruloplasmina nos primeiros dias de vida está associado à função hepática pós-natal (Calamari et al., 1982). A concentração de ceruloplasmina obtida neste estudo apresentou maiores médias no dia 14, com um valor de 19,30 mg/dL (Figura 2), o que nos sugere que esta proteína de fase aguda não apresentou atividades relacionadas ao estresse, uma vez que, para bovinos, níveis de ceruloplasmina que indicam estresse estão na faixa de 36 g/dL e para animais saudáveis a referência é de 24 mg/dL (Ceciliani et al., 2012). No entanto, esses valores são sugeridos de forma geral para bovinos, não os classificando por categorias. A ceruloplasmina apresenta

atividade moderada em bovinos e está diretamente ligada à atividade do ferro (Eckersall, 2008). Assim como em nosso estudo, maiores concentrações de ceruloplasmina foram encontrados em cordeiros machos em relação às fêmeas, com maiores concentrações aos 14 dias de idade (Paksoy et al., 2023). No entanto, estudos que avaliaram a atividade de ceruloplasmina em bezerros neonatos de classes sexuais distintas não foram encontrados.

O estresse do parto resulta em alterações nos perfis de glicose e cortisol, afetando a saúde e o bem-estar tanto da vaca quanto do bezerro (Vanucchi et al., 2015).

Em estudo realizado por Hinde et al. (2014), com primatas, foi relatado que as concentrações de cortisol no leite foram associadas à ordem de parto materna, sendo que mães de primeira parição apresentaram maiores níveis de cortisol no leite que mães pluríparas. Além disso, o fator sexo do bezerro também está associado às concentrações de cortisol no leite, em que o temperamento nervoso de filhos do sexo masculino foi significativamente correlacionado com a concentração de cortisol no leite materno. Em nosso estudo, bezerros machos de mães primíparas apresentaram maiores concentrações de cortisol do que bezerros machos de vacas pluríparas, o que corrobora com os achados citados acima. Há evidências de que o cortisol no leite é altamente correlacionado com o cortisol no sangue de vacas pluríparas de corte, devido a capacidade dos hormônios esteróides atravessarem a barreira epitelial dos alvéolos da glândula e migrarem para o leite (Rushen et al., 2008). Parte de um estudo, realizado em conjunto, com as mães destes bezerros, foi relatado que as vacas primíparas nos períodos pré e pós-parto (dias -7, 0, 7 e 14) apresentaram níveis de cortisol mais altos que as vacas pluríparas (Rodrigues, 2024). No entanto, estudos com vacas e bezerros de corte voltados à avaliação da correlação do cortisol no leite materno com os níveis de cortisol no sangue dos filhos são necessários para melhor elucidar esse conceito.

A diminuição das concentrações de cortisol com o avanço da idade dos bezerros foi similar ao relatado em outros estudos (Jacob et al., 2001; Alhussien et al., 2021). O dia do nascimento (dia 0) registrou as maiores concentrações de cortisol, o que sustenta a sugestão de Arfuso et al. (2023) de que o cortisol é transferido da mãe para o filho através da placenta e não por meio do colostro, e que, quanto maior os níveis de cortisol de uma vaca antes do parto maior será o nível de cortisol em seus bezerros após o nascimento (Uetake et al., 2014); o que foi verificado no estudo de Rodrigues (2024) e o presente trabalho. Após o nascimento, os níveis de cortisol diminuem rapidamente, o que indica adaptação dos animais ao ambiente extrauterino e conseqüente redução do estresse do nascimento (Knowles et al., 2000).

## CONCLUSÕES

A ordem de parto materna não afeta os níveis de imunoglobulina G em bezerros neonatos de corte. No entanto, suas concentrações são influenciadas pela idade do bezerro, sendo maiores nos primeiros dias e diminuindo ao longo do tempo. Bezerros de corte nascidos de vacas de primeiro parto apresentam respostas ao estresse mais intensas em comparação com aqueles nascidos de vacas pluríparas, sobretudo os bezerros machos.

## REFERÊNCIAS

- Aleri, J. W., Hine, B. C., Pyman, M. F., Mansell, P. D., Wales, W. J., Mallard, B., & Fisher, A. D. (2016). Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Research in veterinary science*, *108*, 8-17.
- Alhussien, M. N., Tiwari, S., Panda, B. S. K., Pandey, Y., Lathwal, S. S., & Dang, A. K. (2021). Supplementation of antioxidant micronutrients reduces stress and improves immune function/response in periparturient dairy cows and their calves. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *65*, 126718.
- Altwater-Hughes, T. E., Hodgins, D. C., Wagter-Lesperance, L., Beard, S. C., Cartwright, S. L., & Mallard, B. A. (2022). Concentration and heritability of immunoglobulin G and natural antibody immunoglobulin M in dairy and beef colostrum along with serum total protein in their calves. *Journal of animal science*, *100*(2), skac006.
- Angulo, J., Gómez, L. M., Mahecha, L., Mejía, E., Henao, J., & Mesa, C. (2015). Calf's sex, parity and the hour of harvest after calving affect colostrum quality of dairy cows grazing under high tropical conditions. *Tropical animal health and production*, *47*, 699-705.
- Arfuso, F., Minuti, A., Liotta, L., Giannetto, C., Trevisi, E., Piccione, G., & Lopreiato, V. (2023). Stress and inflammatory response of cows and their calves during peripartum and early neonatal period. *Theriogenology*, *196*, 157-166.
- Arthington, J. (2012). Impact of Stressors on Performance of Weaned Calves an Overview of Our Research on Acute Phase Proteins and Beef Cattle Performance. In *23rd Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Florida* (pp. 54-72).
- Aydogdu, U., & Guzelbektes, H. (2018). Effect of colostrum composition on passive calf immunity in primiparous and multiparous dairy cows. *Veterinárni medicína*, *63*(1).
- Blum, J. W., & Hammon, H. (2000). Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science*, *66*(2), 151-159.
- Böhme, H. J., Sparmann, G., & Hofmann, E. (1983). Biochemistry of liver development in the perinatal period. *Experientia*, *39*, 473-483.

- Brereton, N., McGee, M., Beltman, M., Byrne, C. J., Meredith, D., & Earley, B. (2024). Effect of suckler cow breed type and parity on the development of the cow-calf bond post-partum and calf passive immunity. *Irish Veterinary Journal*, 77(1), 13.
- Calamari, L., Lombardelli, R., & Bertoni, G. (1982). Evoluzione di alcuni parametri ematochimici nel primo mese di vita in vitelli Frisoni e meticci. Proc. 36th Nat. Congr. SISVET, Sanremo, Italy, 36, 385-388.
- Cartwright, S. L., Schmied, J., Karrow, N., & Mallard, B. A. (2023). Impact of heat stress on dairy cattle and selection strategies for thermotolerance: A review. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1198697.
- Ceciliani, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., & Sauerwein, H. (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of proteomics*, 75(14), 4207-4231.
- Chen, Y., Arsenault, R., Napper, S., & Griebel, P. (2015). Models and methods to investigate acute stress responses in cattle. *Animals*, 5(4), 1268-1295.
- Costa, M. C. D., Flaiban, K. K. M. D. C., Coneglian, M. M., Feitosa, F. L. F., Balarin, M. R. S., & Lisbôa, J. A. N. (2008). Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28, 410-416.
- Croft, E. (2022). *The Effects of Maternal Late Gestation Metabolizable Energy Intake and Parity on Beef Cow-Calf Performance and Metabolism* (Doctoral dissertation, University of Guelph).
- Danijela, K. (2015). Endocrine and metabolic adaptations of calves to extra-uterine life. *Acta veterinaria*, 65(3), 297-318.
- Dauby, N., Goetghebuer, T., Kollmann, T. R., Levy, J., & Marchant, A. (2012). Uninfected but not unaffected: chronic maternal infections during pregnancy, fetal immunity, and susceptibility to postnatal infections. *The Lancet infectious diseases*, 12(4), 330-340.
- de Paula, C., Rennó, L. N., Ferreira, M. F. D. L., Moreira, S. S., Martins, H. C., Rodrigues, I. I., ... & Paulino, M. F. (2023). Does Parity Influence the Magnitude of the Stress Response of Nelore Cows at Weaning? *Animals*, 13(8), 1321.
- Duncan, N. B., Stoecklein, K. S., Foote, A. P., & Meyer, A. M. (2023). Dam parity affects fetal growth, placental size, and neonatal metabolism in spring-born beef calves. *Journal of Animal Science*, 101, skac399.
- Eckersall P.D. 2008. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias, p.117-155. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (Eds), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego.
- Godden, S. M., Lombard, J. E., & Woolums, A. R. (2019). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 35(3), 535-556.
- Guy, M. A., McFadden, T. B., Cockrell, D. C., & Besser, T. E. (1994). Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. *Journal of dairy science*, 77(10), 3002-3007.

- Hammon, H. M., Steinhoff-Wagner, J., Flor, J., Schönhusen, U., & Metges, C. C. (2012). Lactation Biology Symposium: Role of colostrum and colostrum components on glucose metabolism in neonatal calves. *Journal of animal science*, 91(2), 685-695.
- Hammon, H. M., Steinhoff-Wagner, J., Schönhusen, U., Metges, C. C., & Blum, J. W. (2012). Energy metabolism in the newborn farm animal with emphasis on the calf: endocrine changes and responses to milk-borne and systemic hormones. *Domestic animal endocrinology*, 43(2), 171-185.
- Hickson, R. E., Back, P. J., Martin, N. P., Kenyon, P. R., & Morris, S. T. (2016). The influence of age and breed of cow on colostrum indicators of suckled beef calves. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 76, 163-168.
- Hinde, K., Skibieli, A. L., Foster, A. B., Del Rosso, L., Mendoza, S. P., & Capitano, J. P. (2015). Cortisol in mother's milk across lactation reflects maternal life history and predicts infant temperament. *Behavioral Ecology*, 26(1), 269-281.
- Huber, S., Costantini, D., Houdelier, C., Marasco, V. (2022). Early-Life Stress Drives the Molecular Mechanisms Shaping the Adult Phenotype. In: Costantini, D., Marasco, V. (eds) *Development Strategies and Biodiversity. Fascinating Life Sciences*. Springer, Cham.
- Hulbert, L. E., & Moisés, S. J. (2016). Stress, immunity, and the management of calves. *Journal of dairy science*, 99(4), 3199-3216.
- Jacob, S. K., Ramnath, V., Philomina, P. T., Rahunandhanan, K. V., & Kannan, A. (2001). Assessment of physiological stress in periparturient cows and neonatal calves. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 45(2), 233-238.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (Eds.). (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press.
- Kaps, M., & Lamberson, W. R. (2004). *Biostatistics for animal science*.
- Knowles, T. G., Edwards, J. E., Bazeley, K. J., Brown, S. N., Butterworth, A., & Warriss, P. D. (2000). Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*, 147(21), 593-598.
- Logan, E. F., McBeath, D. G., & Lowman, B. G. (1974). Quantitative studies on serum immunoglobulin levels in suckled calves from birth to five weeks.
- Lomborg, S. R., Nielsen, L. R., Heegaard, P. M., & Jacobsen, S. J. V. R. C. (2008). Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Veterinary research communications*, 32, 575-582.
- Machado Neto R., Packer I.U., Bonilha L.M., Figueiredo L.A., Razzok A.G. & Cândido J.G. 1997. Concentração de IgG sérica em bezerros das raças Nelore, Guzerá, Gir e Caracu. 1. Estatísticas descritivas e causas de variação. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 26(5), 914-919.
- Marchini, G., Berggren, V., Djilali-Merzoug, R., & Hansson, L. O. (2000). The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta paediatrica*, 89(9), 1082-1086.

- McGee, M., & Earley, B. (2019). passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, 13(4), 810-825.
- McGee, M., Drennan, M. J., & Caffrey, P. J. (2006). Effect of age and nutrient restriction pre partum on beef suckler cow serum immunoglobulin concentrations, colostrum yield, composition and immunoglobulin concentration and immune status of their progeny. *Irish journal of agricultural and food research*, 157-171.
- McGuirk, S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 139-153.
- Meléndez, D. M., Marti, S., Haley, D. B., Schwinghamer, T. D., & Schwartzkopf-Genswein, K. S. (2021). Effects of conditioning, source, and rest on indicators of stress in beef cattle transported by road. *PLoS One*, 16(1), e0244854.
- Meyer, A. M., Duncan, N. B., Stoecklein, K. S., & Stephenson, E. L. (2019). 298 Effects of parity on late gestational uterine blood flow and hemodynamics in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 97(Supplement\_3), 137-138.
- Meyer, A. M., & Redifer, C. A. (2024). The curse of the firstborn: Effects of dam primiparity on developmental programming in ruminant offspring. *Animal Reproduction Science*, 265, 107469.
- Murray, C. F., Leslie, K. E. (2013). Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement. *The Veterinary Journal*, 198(2), 322-328.
- Norman, L. M., Hohenboken, W. D., & Kelley, K. W. (1981). Genetic differences in concentration of immunoglobulins G1 and M in serum and colostrum of cows and in serum of neonatal calves. *Journal of Animal Science*, 53(6), 1465-1472.
- Osorio, J. S. (2020). Gut health, stress, and immunity in neonatal dairy calves: the host side of host-pathogen interactions. *Journal of animal science and biotechnology*, 11(1), 105.
- Paksoy, N., Kahraman, M., Şahan, A., Öztürk, E. E., Merhan, O., & Bozukluhan, K. (2023). Investigation of some acute phase protein levels of Awassi lambs in neonatal period and their relationship with lamb weight. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 60(3).
- Peetsalu, K., Niine, T., Loch, M., Dorbek-Kolin, E., Tummeleht, L., & Orro, T. (2022). Effect of colostrum on the acute-phase response in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 105(7), 6207-6219.
- Perino, L. J., Wittum, T. E., & Ross, G. S. (1995). Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. *American journal of veterinary research*, 56(9), 1144-1148.
- Petersen, H., Nielsen, J., & Heegaard, P. M. H. (2004). Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary research*, 35(2), 163-187.
- Price, E. O., Harris, J. E., Borgwardt, R. E., Sween, M. L., & Connor, J. M. (2003). Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. *Journal of Animal Science*, 81(1), 116-121.

- Rocha, T. G., Nociti, R. P., Sampaio, A. A., & Fagliari, J. J. (2012). Passive immunity transfer and serum constituents of crossbred calves. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32, 515-522.
- Rodrigues, I. I. Efeito da ordem de parto de vacas nelore em pastejo: estresse no periparto, metabolismo e produção de leite. 2024. *Tese (Doutorado em Zootecnia)* – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2024.
- Rushen, J., Passillé, A. M., Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2008). The Welfare of Cattle; Phillips, C., Ed.
- Sangild, P. T., 2001: Transitions in the life of the gut and brain. In: J. E. Lindberg, B. Ogle (eds), *Digestive Physiology of Pigs*. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 3–17.
- Seppä-Lassila, L., Eerola, U., Orro, T., Härtel, H., Simojoki, H., Autio, T., Pelkonen, S., & Soveri, T. (2017). Health and growth of Finnish beef calves and the relation to acute phase response. *Livestock science*, 196, 7-13.
- Suh, G. H., Hur, T. Y., Son, D. S., Choe, C. Y., Jung, Y. H., Ahn, B. S., ... & Lee, C. G. (2003). Differences in the serum immunoglobulin concentrations between dairy and beef calves from birth to 14 days of age. *Journal of veterinary science*, 4(3), 257-260.
- Tóthová, C., Nagy, O., Nagyová, V., & Kováč, G. (2015). Changes in the concentrations of acute phase proteins in calves during the first month of life/promene koncentracije proteina akutne faze tokom prvog meseca života teladi. *Acta Veterinaria*, 65(2), 260-270.
- Turini, L., Conte, G., Bonelli, F., Sgorbini, M., Madrigali, A., & Mele, M. (2020). The relationship between colostrum quality, passive transfer of immunity and birth and weaning weight in neonatal calves. *Livestock Science*, 238, 104033.
- Uetake, K., Akiyama, K., & Tanaka, T. (2014). Relationship between stress levels of the antepartum cow and her newborn calf. *Animal Science Journal*, 85(1), 81-84.
- Ulutas, P. A., Ulutas, B., Kiral, F., Asici, G. S. E., & Gultekin, M. (2016). Changes of acute phase protein levels in Saanen goat kids during neonatal period. *Small Ruminant Research*, 146, 33-36.
- Van Schaftingen, E., & Gerin, I. (2002). The glucose-6-phosphatase system. *Biochemical Journal*, 362(3), 513-532.
- Vannucchi, C. I., Rodrigues, J. A., Silva, L. C. G., Lúcio, C. F., Veiga, G. A. L., Furtado, P. V., ... & Nichi, M. (2015). Association between birth conditions and glucose and cortisol profiles of periparturient dairy cows and neonatal calves. *Veterinary Record*, 176(14), 358-358.
- Veissier, I., De La Fe, A. R., & Pradel, P. (1998). Nonnutritive oral activities and stress responses of veal calves in relation to feeding and housing conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 57(1-2), 35-49.
- Waldner, C. L., & Rosengren, L. B. (2009). Factors associated with serum immunoglobulin levels in beef calves from Alberta and Saskatchewan and association between passive transfer and health outcomes. *The Canadian veterinary journal*, 50(3), 275.

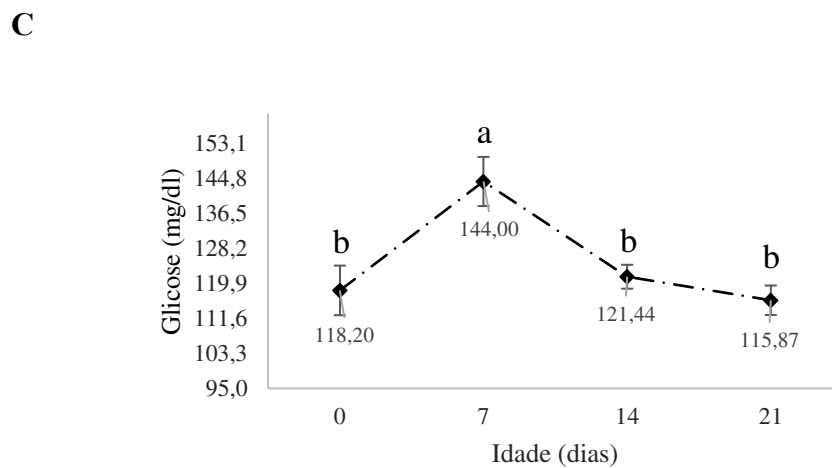
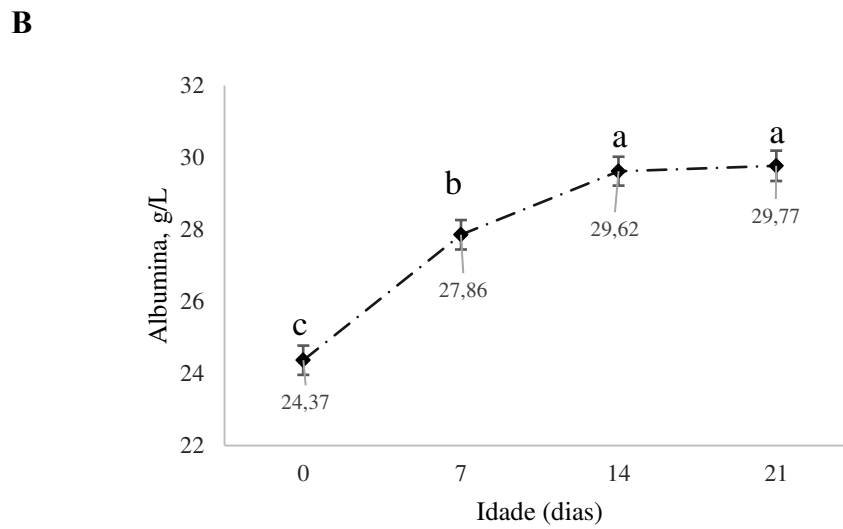
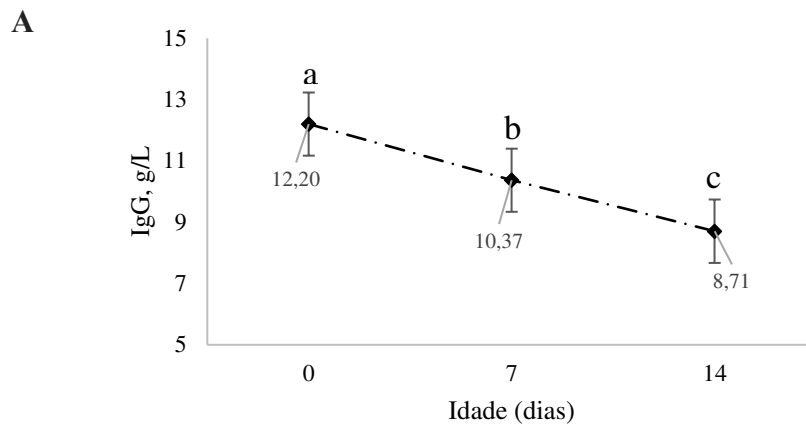
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of veterinary internal medicine*, *14*(6), 569-577.
- Wright, E. C., Boehmer, B. H., Cooper-Prado, M. J., Bailey, C. L., & Wettemann, R. P. (2014). Effect of elevated ambient temperature at parturition on duration of gestation, ruminal temperature, and endocrine function of fall-calving beef cows. *Journal of Animal Science*, *92*(10), 4449-4456.
- Yehia, S. G., Ramadan, E. S., Megahed, E. A., & Salem, N. Y. (2020). Effect of parity on metabolic and oxidative stress profiles in Holstein dairy cows. *Veterinary World*, *13*(12), 2780.
- Zavy, M. T., Juniewicz, P. E., Phillips, W. A., & VonTungeln, D. L. (1992). Effect of initial restraint, weaning, and transport stress on baseline and ACTH-stimulated cortisol responses in beef calves of different genotypes. *American Journal of Veterinary Research*, *53*(4), 551-557.
- Ghuman, S. P. S., Sharma, R. D., Prabhakar, S., & Nanda, A. S. (1997). Plasma cortisol and blood glucose milieu as an index of stress in buffaloes with uterine torsion.
- Zwierzchowski, G., Miciński, J., Wójcik, R., & Nowakowski, J. (2020). Colostrum-supplemented transition milk positively affects serum biochemical parameters, humoral immunity indicators and the growth performance of calves. *Livestock science*, *234*, 103976.

## ANEXO B

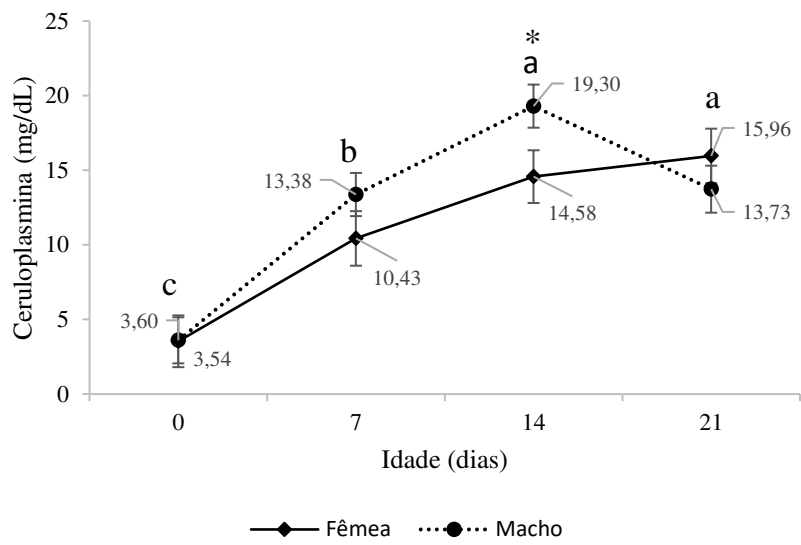
**Tabela 1.** Médias das concentrações de imunoglobulinas G e metabólitos associados ao estresse em bezerros Red Angus x Nelore de vacas de diferentes ordens de parto em pastejo

Item	OP		Sexo		<sup>3</sup> EPM	<sup>4</sup> OP	<sup>5</sup> S	<sup>6</sup> I	p-valor			
	<sup>1</sup> BPRI	<sup>2</sup> BPLU	Macho	Fêmea					OP*S	OP*I	S*I	OP*S*I
Imunoglobulina G (g/L)	10	11,8	11,2	10,6	1,33	0,35	0,77	<,001	0,42	0,76	0,84	0,93
Glicose (mg/dL)	123,74	124,84	124,73	123,84	3,692	0,83	0,86	0,003	0,30	0,88	0,35	0,17
Albumina (g/L)	27,87	27,76	27,63	27,99	0,45	0,87	0,58	<,001	0,51	0,70	0,51	0,64
Ceruloplasmina (mg/dL)	12,68	10,95	12,5	11,13	1,65	0,31	0,43	<,001	0,45	0,48	0,044	0,59
Haptoglobina (DO*100)	1,98a	1,22b	1,6	1,59	0,15	<0,001	0,96	0,15	0,80	0,47	0,26	0,96
Cortisol (ng/mL)	21,35	22,95	22,90	21,413	4,43	0,60	0,63	<,001	0,031	0,58	0,47	0,10

<sup>1</sup>Bezerros filhos de primíparas; <sup>2</sup>Bezerros filhos de pluríparas; <sup>3</sup>Erro padrão da média, <sup>4</sup>Ordem de parto materna; <sup>5</sup>Sexo; <sup>6</sup>Idade. P-valores <0.05 foram considerados estatisticamente significativos. Médias com letras diferentes foram consideradas diferentes umas das outras (P < 0.05).

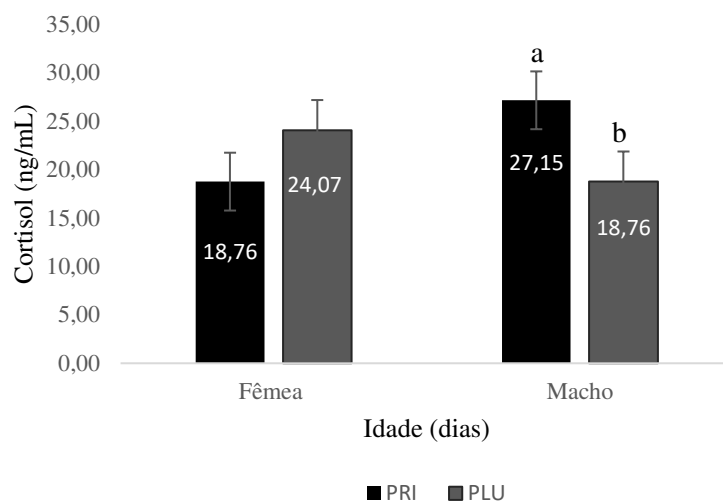


**Figura 1.** Concentrações sanguíneas de Imunoglobulinas G (IgG) (A), albumina (B) e glicose (C) em bezerros de corte Red Angus x Nelore no período neonatal em pastejo. Médias com letras diferentes foram consideradas diferentes umas das outras ( $P < 0.05$ ).

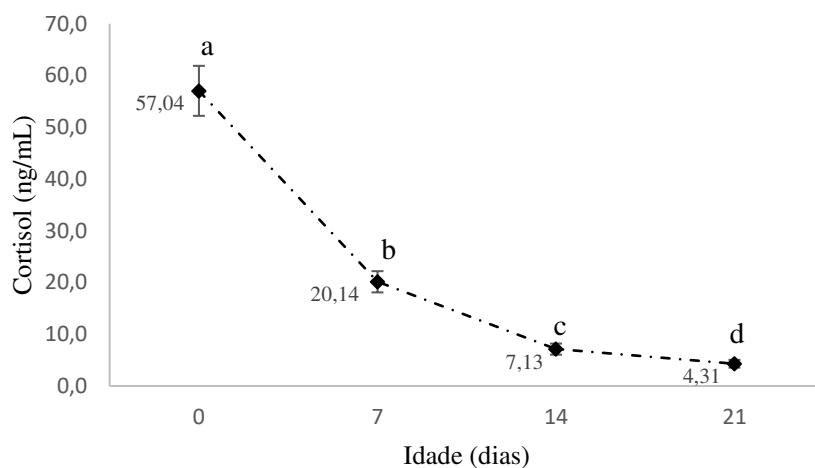


**Figure 2.** Concentrações sanguíneas de ceruloplasmina em bezerros de corte Red Angus x Nelore no período neonatal de acordo com o sexo e a idade dos animais Médias com letras diferentes foram consideradas diferentes entre si ( $P < 0.05$ ). Os dias com asteriscos (\*) são significativamente diferentes entre as ordens de parto materna ( $P < 0,05$ ).

**A**



**B**



**Figura 3.** Concentrações sanguíneas de cortisol de bezerros Red Angus x Nelore filhos de primíparas (BPRI) e filhos de pluríparas (BPLU) machos e fêmeas (A) e durante o período neonatal (B). Médias com letras diferentes foram consideradas diferentes umas das outras ( $P < 0.05$ ).

### **CAPÍTULO 3 - Influência da ordem de parto materna e do sexo sobre o desempenho e metabolismo de bezerros de corte no período pré-desmame (Manuscrito em preparação)**

#### **RESUMO**

Marcos, Naiara Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2024. **Influência da ordem de parto materna e do sexo sobre o desempenho e metabolismo de bezerros de corte em pastejo no período pré-desmame.** Orientadora: Luciana Navajas Rennó.

A ordem de parto materna e o sexo podem influenciar o desempenho e os metabólitos sanguíneos de bezerros de corte. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da ordem de parto materna e do sexo no desempenho e metabolismo de bezerros de corte em pastejo durante o período pré-desmame. Foram utilizados 32 bezerros Red Angus x Nelore, 17 machos e 15 fêmeas, provindos de 17 pluríparas e 15 primíparas. Vacas e bezerros foram alocados aleatoriamente em 8 piquetes cobertos com capim *Urochloa decumbens*. Pesagem e coletas de sangue dos animais foram realizadas nos dias 0 (dia do nascimento) e nos dias 7, 14, 21, 42, 91, 140 e 203 de idade. As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular para a realização das análises de glicose, fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-1), proteínas totais, albumina, colesterol total, triglicerídeos, HDL, AST, ALT, GGT, ureia e creatinina. O conteúdo de IGF-1 foi quantificado por quimioluminescência. As concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, colesterol total, triglicerídeos, HDL, ALT, AST, glicose, creatinina e ureia foram quantificadas em analisador bioquímico automatizado. As concentrações de globulinas, LDL e VLDL foram calculadas. As análises estatísticas foram realizadas usando PROC MIXED no SAS, considerando 0,05 como nível crítico de probabilidade para ocorrência do erro tipo I. Todas as variáveis foram afetadas pela idade ( $p < 0,01$ ). Bezerros de pluríparas apresentaram maior peso corporal ao longo do estudo em relação aos bezerros de primíparas ( $p < 0,02$ ). O ganho médio diário (GMD) de bezerros filhos de pluríparas e bezerros filhos de primíparas foram semelhantes ( $p > 0,05$ ), mas houve efeito do sexo ( $p < 0,001$ ), sendo que bezerros machos apresentaram maior GMD. As concentrações de IGF-1 não foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $P > 0,05$ ), porém houve interação entre sexo e dia ( $p < 0,05$ ), em que bezerros machos apresentaram maiores concentrações aos 140 e 203 dias. Não foi observado efeito da ordem de parto materna, do sexo do bezerro e a interação entre eles sobre as concentrações de proteínas totais, globulinas e albumina ( $p > 0,05$ ). As concentrações de colesterol total foram maiores para bezerras fêmeas em relação aos

bezerros machos ( $p < 0,05$ ). As concentrações de HDL foram influenciadas pelo sexo dos bezerros ( $p < 0,01$ ), em que bezerras fêmeas tiveram maiores níveis em relação aos bezerros machos, e houve interação ordem de parto materna\*idade ( $p < 0,01$ ), em que as concentrações de HDL foram maiores em bezerros de primíparas nos dias 0 e 7 e maiores em bezerros de pluríparas nos dias 42, 91, 140 e 203 de idade. As concentrações de LDL não foram influenciadas pela ordem de parto materna e sexo do bezerro ( $p > 0,05$ ), porém foi encontrado interação ordem de parto materna\*dia ( $p < 0,001$ ), em que essas concentrações foram maiores para bezerros filhos de pluríparas aos 7, 14 e 21 dias de idade. A ordem de parto materna, o sexo e a interação entre eles não influenciaram as concentrações de VLDL e triglicerídeos ( $p > 0,05$ ). Houve efeito de idade e ordem de parto materna nas atividades das enzimas AST e ALT ( $p < 0,05$ ), sendo que bezerros filhos de primíparas apresentaram maior atividade do que os bezerros de pluríparas. Foi observado interação entre ordem de parto materna e idade ( $p < 0,05$ ), nas concentrações de creatinina, com maiores concentrações em bezerros de pluríparas aos 203 dias de idade. A ordem de parto materna afeta o desempenho e o metabolismo dos bezerros de corte no período pré-desmame, com bezerros de primíparas com menor peso corporal, exibindo maior atividade enzimática e concentração de HDL. Bezerros machos apresentam maior ganho médio diário e níveis mais altos de IGF-1, enquanto bezerras apresentam maiores concentrações de colesterol e HDL.

Palavras-chave: crescimento; fêmea; macho; metabólitos; pluríparas; primíparas; Red Angus x Nelore.

## ABSTRACT

Marcos, Naiara Aparecida, M. Sc., Federal University Viçosa, September, 2024. **Influence of maternal parity and sex on the performance and metabolism of beef calves during the pre-weaning period.** Adviser: Luciana Navajas Rennó.

Maternal parity and sex can influence the performance and blood metabolites of beef calves. The objective of this study was to evaluate the influence of maternal parity and sex on the performance and metabolism of beef calves grazing during the pre-weaning period. A total of 32 Red Angus x Nelore calves, 17 males and 15 females, born from 17 multiparous and 15 primiparous cows, were used. Cows and calves were randomly allocated to 8 paddocks covered with *Urochloa decumbens* grass. Weighing and blood sampling of the animals were performed on days 0 (birth day), 7, 14, 21, 42, 91, 140, and 203 of age. Blood samples were obtained by jugular vein puncture for analysis of glucose, insulin-like growth factor 1 (IGF-1), total proteins, albumin, total cholesterol, triglycerides, HDL, AST, ALT, GGT, urea, and creatinine. IGF-1 content was quantified by chemiluminescence. Blood concentrations of total proteins, albumin, total cholesterol, triglycerides, HDL, ALT, AST, glucose, creatinine, and urea were quantified using an automated biochemical analyzer. Concentrations of globulins, LDL, and VLDL were calculated. Statistical analyses were performed using PROC MIXED in SAS, considering 0.05 as the critical probability level for type I error occurrence. All variables were affected by age ( $p < 0.01$ ). Calves from multiparous cows had higher body weight throughout the study compared to calves from primiparous cows ( $p < 0.02$ ). Average daily gain (ADG) of calves from multiparous cows and calves from primiparous cows were similar ( $p > 0.05$ ), but there was a sex effect ( $p < 0.001$ ), with male calves having higher ADG. IGF-1 concentrations were not influenced by maternal parity ( $p > 0.05$ ); however, there was an interaction between sex and day ( $p < 0.05$ ), with male calves showing higher concentrations on days 140 and 203. No effect of maternal parity, calf sex, or their interaction was observed on total protein, globulin, and albumin concentrations ( $p > 0.05$ ). Total cholesterol concentrations were higher in female calves compared to male calves ( $p < 0.05$ ). HDL concentrations were influenced by calf sex ( $p < 0.01$ ), with female calves having higher levels compared to male calves, and there was a maternal parityage interaction ( $p < 0.01$ ), with HDL concentrations being higher in calves from primiparous cows on days 0 and 7 and higher in calves from multiparous cows on days 42, 91, 140, and 203. LDL concentrations were not influenced by maternal parity and calf sex ( $p > 0.05$ ), but there was a maternal parityday interaction ( $p < 0.001$ ), with higher concentrations in calves

from multiparous cows on days 7, 14, and 21. Maternal parity, calf sex, and their interaction did not influence VLDL and triglyceride concentrations ( $p>0.05$ ). There was an age and maternal parity effect on AST and ALT enzyme activities ( $p<0.05$ ), with calves from primiparous cows showing higher activity than calves from multiparous cows. A maternal parity and age interaction ( $p<0.05$ ) was observed for creatinine concentrations, with higher concentrations in calves from multiparous cows on day 203. Maternal parity affects the performance and metabolism of beef calves during the pre-weaning period, with calves from primiparous cows having lower body weight, higher enzymatic activity, and higher HDL concentration. Male calves show higher average daily gain and higher IGF-1 levels, while female calves have higher cholesterol and HDL concentrations.

Keywords: growth; female; male; metabolites; multiparous; primiparous; Red Angus x Nelore.

## INTRODUÇÃO

O período pré-desmame compreende o período entre o nascimento e o desmame de bezerros de corte. O desempenho de bezerros nessa fase é crítico, pois o valor de comercialização dos bezerros desmamados é influenciado pelo peso vivo dos animais, que, por sua vez, depende da habilidade materna das vacas e da capacidade de crescimento dos mesmos (Favero et al., 2019), o que torna essencial a avaliação desse índice zootécnico para obter resultados satisfatórios nessa fase do ciclo produtivo.

Diversos fatores afetam o desenvolvimento de bezerros na fase pré-desmame, sendo a ordem de parto materna um deles. Esse fator impacta a ingestão de matéria seca e as necessidades nutricionais da mãe, especialmente em sistemas onde as novilhas são criadas para parir aos dois anos (López Valiente et al., 2021). Como as novilhas ainda estão crescendo, os nutrientes precisam ser divididos entre o feto e a lactação, o que pode alterar a programação fetal e influenciar o crescimento e a saúde dos bezerros após o nascimento (Long et al., 2021; Duncan et al., 2023; Meyer e Redifer, 2024). Além disso, estudos demonstram que vacas pluríparas produzem mais leite do que vacas primíparas de corte e esta produção interfere no maior peso dos bezerros ao desmame (Linden et al., 2014; López Valiente et al., 2021; Parsons et al., 2021; Šlyžienė et al., 2023). No entanto, poucos estudos avaliaram o metabolismo dos bezerros de corte durante o período pré-desmame (López Valiente et al., 2021; Croft, 2022). Há importância em avaliar o desempenho associado ao metabolismo desses animais, uma vez que avaliações das medidas de desempenho isoladas podem nem sempre ser indicadores de bem-estar apropriados durante certas janelas críticas para bezerros (Hulbert e Moisés, 2016; Lopreiato et al., 2023).

Alguns relatos na literatura mostram diferentes respostas relacionadas ao sexo do bezerro em índices produtivos e reprodutivos. Dentre elas podemos citar o peso ao nascer, a produção de leite e a concentração de ácidos graxos no leite (Kertz et al., 1996; Gillespie et al., 2017; Kappes et al., 2023). No entanto, a maioria dos estudos foram realizados com vacas e bezerros de leite e apresentaram resultados controversos (Chegini et al., 2015; Hess et al., 2016; Quaresma et al., 2020), além de serem mais voltados para efeitos na mãe e não sendo avaliados efeitos do sexo nos bezerros.

A hipótese deste estudo é que bezerros provenientes de primíparas apresentam desempenho inferior e um perfil metabólico distinto em comparação aos bezerros oriundos de pluríparas. Adicionalmente, acredita-se que o sexo do bezerro exerce influência significativa

sobre o desempenho e os parâmetros metabólicos de bezerros de corte em regime de pastejo. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da ordem de parto materna e do sexo no desempenho e metabolismo de bezerros de corte em pastejo durante o período pré-desmame.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O protocolo experimental nº 050/2020 foi aprovado pela Comissão de Ética de uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV). O experimento foi conduzido nas dependências da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

### *Animais e delineamento experimental*

Foram utilizados 32 bezerros Red Angus x Nelore, provindos de 32 vacas Nelore, sendo 17 pluríparas (10 machos e 7 fêmeas) e 15 primíparas (7 machos e 8 fêmeas). Anteriormente ao nascimento dos bezerros, as mães foram alocadas aleatoriamente em 8 piquetes cobertos com capim *Urochloa decumbens* (área média de 8,6 ha/piquete) e providos de bebedouro e comedouro 60 dias antes do parto para adaptação ao ambiente e interações sociais. Em cada piquete haviam vacas pluríparas e primíparas. Vacas e novilhas foram suplementadas no terço final da gestação com 1 Kg de suplemento por dia até o parto. O suplemento foi composto de farelo de soja, fubá de milho e ureia, com 35% de proteína bruta (PB). Após o parto, as vacas foram mantidas nos mesmos piquetes com seus respectivos bezerros, constituindo assim, os tratamentos experimentais. Após o nascimento foram realizados os procedimentos iniciais com os bezerros como cura do umbigo, identificação com o uso de brincador, pesagem e coletas de sangue. A partir de 90 dias de idade foi ofertado aos bezerros suplemento energético-protéico formulado para conter 25% PB (Tabela 1). O suplemento foi fornecido na quantidade de 7g/kg de peso corporal diariamente, às 11h00, com o intuito de minimizar a interferência no comportamento de pastejo dos animais (Adams et al., 1985). A suplementação foi realizada em sistema *creep-feeding*, permitindo o acesso simultâneo dos bezerros e evitando a interferência das mães. Vacas e bezerros receberam mistura mineral *ad libitum* (Tabela 1). Vacas e bezerros permaneceram nos mesmos piquetes durante todo o período experimental.

### *Coleta de amostras*

Coletas de sangue e pesagem dos animais foram realizadas nos dias 0 (dia do nascimento) e nos dias 7, 14, 21, 42, 91, 140 e 203 de idade. O peso dos animais foi obtido após

o final das coletas de sangue. As coletas foram realizadas no período da manhã, exceto no dia do nascimento.

As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular, utilizando tubos com anticoagulante para análises de glicose (BD Vacutainer® Fluoretado/EDTA, São Paulo, Brasil) e gel separador de soro (BD Vacutainer® SST® II Advance®, São Paulo, Brasil) para análises de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), proteínas totais, albumina, colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de alta densidade(HDL), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT),  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT), ureia e creatinina. Após as coletas, os tubos foram centrifugados a  $2200 \times g$  por 20 min, para a obtenção do plasma e soro, imediatamente transferidos para eppendorfs e armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises.

#### *Amostragem da forragem*

A cada 30 dias, foram realizadas coletas de pasto para quantificação da disponibilidade total de matéria seca (MS) e de MSpd. Esta foi realizada com auxílio de um quadrado metálico de dimensões de 0,5 x 0,5 m, sendo o corte realizado rente ao solo de cinco pontos aleatórios dentro de cada piquete, para a quantificação de MS. Além disso, foram coletadas amostras para a avaliação qualitativa do pasto, realizada de forma manual. Após a coleta, as amostras de cada piquete foram identificadas, pesadas e levadas imediatamente à estufa com circulação forçada de ar a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 horas e moídas em moinhos de facas Wiley (modelo 3, Arthur H, Thomas, Filadélfia, EUA) a 1 e 2 mm, para posteriores análises. Todos os dados de cada mês foram expressos em média por estação, como segue: estação de transição seca para águas (período compreendido entre setembro e novembro), estação das águas (período compreendido entre dezembro e fevereiro) e estação de transição águas para seca (março a maio). A disponibilidade média de MS de forragem foi: estação de transição seca-águas = 2,98 t/ha; estação das águas = 3,48t/ha; transição águas-seca =3,76 t/ha. Os dados de composição da forragem de acordo com o período estão descritos na Tabela 1.

#### *Análises laboratoriais*

Para obter a composição da forragem, foram quantificados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (cinzas), nitrogênio proteico (N) para estimar proteína bruta, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Os teores de MS (seca por 16 h a  $105^{\circ}\text{C}$ ; método INCT-CA G-003/1), cinzas (combustão completa a  $550^{\circ}\text{C}$ ; método M-001/2) e N (método Kjeldahl; INCT-CA N-001/2) foram avaliados de acordo com os procedimentos analíticos padrão do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Zootecnia

INCT-CA (Detmann et al., 2021) usando as amostras processadas a 1 mm. O teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi avaliado de acordo com Mertens et al. (2002) usando  $\alpha$ -amilase estável ao calor. O teor de FDN foi expresso com correção para cinzas e proteínas contaminantes (FDNcp). O conteúdo de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi estimado por meio de um procedimento de incubação in situ de 288 h usando amostras processadas a 2 mm (Valente et al., 2011).

As concentrações plasmáticas de glicose (método enzimático colorimétrico, Bioclin®K082), concentrações séricas de albumina (método verde bromocresol, Bioclin®K040), proteínas totais (método do biureto, Bioclin®K031), colesterol total (método enzimático colorimétrico, Bioclin®K083), triglicerídeos (método enzimático colorimétrico, Bioclin®K117), HDL (método enzimático colorimétrico, Bioclin®K071), ALT (método cinético UV, Bioclin®K049), AST (método cinético UV, Bioclin®K048), GGT (método SZASZ Modificado (IFCC), Bioclin®), creatinina (método cinético colorimétrico, Bioclin®K222) e ureia (método cinético UV, Bioclin®K056) foram quantificadas em analisador bioquímico automatizado (Mindray, BS200E, Shenzhen, China).

O conteúdo de IGF-1 foi quantificado usando kits Siemens® (Berlim, Alemanha) por quimioluminescência (Berlim, Alemanha).

### *Cálculos*

A MSpd foi estimada segundo a seguinte equação descrita por Paulino, Detmann e Valadares Filho (2008):

$$MSpd = 0,98x (100 - FDN) + (FDN - FDNi) \quad (1)$$

Onde MSpd = matéria seca potencialmente digestível (%); 0,98 = digestibilidade verdadeira do conteúdo intracelular; FDN = fibra em detergente neutro (%); FDNi = fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (%).

O conteúdo de VLDL foi calculado pela equação descrita por Friedewald et al. (1972):

$$VLDL = \frac{\text{Triglicerídeos}}{5} \quad (2)$$

Onde VLDL = Lipoproteína de densidade muito baixa.

O conteúdo sérico de LDL foi obtido pela seguinte equação:

$$CT = HDL + LDL + VLDL \quad (3)$$

em que CT = colesterol total e LDL = Lipoproteína de baixa densidade.

As globulinas foram calculadas pela diferença entre proteínas totais e albumina. A concentração de nitrogênio ureico sérico (NUS) foi estimado em 46,67% da ureia sérica.

### *Análises estatísticas*

As variáveis-resposta foram avaliadas segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + e(i)j + \varepsilon(ij)k$$

onde  $Y_{ijk}$  = Observações no animal  $k$  dentro do piquete  $j$ , submetido ao tratamento  $i$ ;  $i$  é o tratamento que inclui a ordem de parto materna e o sexo do bezerro;  $\mu$  é a constante geral;  $T_i$  = Efeito fixo do tratamento  $i$ ;  $e(i)j$  = Efeito aleatório do piquete  $j$  aninhado ao tratamento  $i$ ; assumido como NIID (0,  $\sigma^2 \varepsilon$ );  $\varepsilon(ij)k$  = Efeito aleatório de erro associado a cada observação  $k$ , assumido como NIID (0,  $\sigma^2 \varepsilon$ ). Todos os dados foram analisados como um planejamento fatorial  $2 \times 2$  usando o piquete como unidade experimental. As declarações do modelo continham os efeitos da ordem de parto materna e do sexo e a interação entre eles (ordem de parto materna  $\times$  sexo). Todas as variáveis-resposta foram interpretadas como medidas repetidas de acordo com os dias de avaliação em torno da idade do bezerro (efeito fixo). A escolha da melhor estrutura da matriz de (co)variância foi baseada no menor valor do critério de informação de Akaike. A normalidade dos dados foi obtida testando a distribuição dos resíduos, utilizando o teste de Shapiro-Wilk do PROC UNIVARIATE do SAS (Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Os graus de liberdade foram estimados usando o método de Kenward-Roger. As análises foram realizadas usando PROC MIXED no SAS 9.4 (Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Todas as avaliações estatísticas foram realizadas considerando 0,05 como nível crítico de probabilidade para ocorrência do erro tipo I.

### **RESULTADOS**

O peso corporal dos bezerros aumentou ao longo do tempo ( $p < 0,001$ ), sendo que os bezerros de pluríparas apresentaram maior peso corporal ao longo do estudo em relação aos bezerros de primíparas ( $p < 0,02$ ; Figura 1). O GMD de bezerros filhos de pluríparas foi maior que em bezerros filhos de primíparas no período do nascimento aos 90 dias de idade dos bezerros ( $p < 0,05$ ; Tabela 2), e houve efeito do sexo no período de 90 a 203 dias e no período do nascimento aos 203 dias ( $p < 0,001$ ), em que bezerros machos apresentaram maior GMD que as fêmeas (Tabela 2). Ao avaliar o GMD nos diferentes períodos do experimento foi observado maiores ganhos no período de 90 a 203 dias de idade, seguido do período do nascimento até o desmame e do nascimento até os 90 dias de idade ( $P < 0,001$ ; Figura 2).

As concentrações de IGF-1 não foram influenciadas pela ordem de parto materna ( $P > 0,05$ ), porém houve interação entre sexo e dia ( $p < 0,05$ ; Tabela 3), em que bezerros machos

apresentaram maiores concentrações aos 140 e 203 dias de idade em relação às fêmeas. As concentrações variaram ao longo do estudo, apresentando pico aos 140 dias de idade ( $p < 0,001$ ; Figura 3).

Efeito de idade ( $p < 0,001$ ) foi observado para as concentrações de proteínas totais, globulinas e albumina, mas não foi observado efeito da ordem de parto materna, sexo do bezerro e a interação entre eles ( $p > 0,05$ ; Tabela 3). As concentrações de proteínas totais e globulinas foram maiores no dia do nascimento (dia 0), diminuíram até os 42 dias e aumentaram até os 203 dias de idade (Figuras 4-A e 4-B). Os níveis de albumina foram menores no dia 0 e aumentaram progressivamente até os 140 dias de idade (Figura 4-C).

As concentrações séricas de colesterol total, HDL, VLDL, LDL e triglicerídeos foram influenciadas pela idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ; Tabela 3). As concentrações de colesterol total foram maiores para bezerras fêmeas em relação aos bezerros machos ( $p < 0,05$ ) e apresentaram menores concentrações no dia 0, com aumento até os 42 dias, onde seus níveis se estabilizaram (Figura 5-A). As concentrações de HDL foram influenciadas pelo sexo dos bezerros ( $p < 0,01$ , Tabela 3), em que bezerras fêmeas tiveram maiores níveis em relação aos bezerros machos em todo o estudo (Figura 5-B1), e houve interação ordem de parto materna\*idade ( $p < 0,01$ ; Figura 5-B2), em que as concentrações de HDL foram maiores em bezerros filhos de primíparas nos dias 0 e 7 e maiores em bezerros de pluríparas nos 42, 91, 140 e 203 dias de idade, sendo essas concentrações menores no dia 0 e aumentadas com o avanço da idade dos animais (Figura 5-B1 e B2). A ordem de parto materna, sexo e interação entre eles não influenciaram as concentrações de VLDL e triglicerídeos ( $p > 0,05$ ; Tabela 3). As concentrações de VLDL e triglicerídeos apresentaram pico aos 7 dias, diminuindo progressivamente até os 203 dias ( $p < 0,01$ ; Figura 5-D). As concentrações de LDL não foram influenciadas pela ordem de parto materna e sexo do bezerro ( $p > 0,05$ ; Tabela 3), porém foi encontrada interação ordem de parto materna\*dia ( $p < 0,001$ ), em que essas concentrações foram maiores para bezerros filhos de pluríparas aos 7, 14 e 21 dias de idade (Figura 5-C). Não houve efeitos de ordem de parto materna, sexo e a interação entre eles nas concentrações de VLDL e triglicerídeos ( $p > 0,05$ ; Tabela 3). As concentrações de VLDL e triglicerídeos se comportaram de maneira similar ao longo do estudo, em que aumentaram até os 7 dias, diminuíram aos 21 dias e voltaram a aumentar aos 42 dias e diminuíram novamente até o fim do estudo ( $p < 0,001$ ; Figuras 5-D e 5-E).

Ocorreu efeito de idade e ordem de parto materna nas atividades das enzimas AST e ALT ( $p < 0,01$ ), mas apenas efeito de idade nas atividades de GGT ( $p > 0,05$ ). A atividade de GGT

foi maior no dia 0 e diminuíram até aos 14 dias de idade onde se estabilizaram para todos os bezerros (Figura 6-A). A atividade de AST foi maior no dia do nascimento, apresentando diminuição aos 7 dias e aumentando ao longo do estudo, sendo que bezerros filhos de primíparas apresentaram maior atividade do que os bezerros de pluríparas durante todo o período experimental (Figura 6-B). Não houve efeito do sexo dos bezerros nas atividades das enzimas hepáticas ( $p < 0,001$ , Tabela 3). A atividade da ALT foi maior para bezerros de primíparas em relação aos bezerros de pluríparas ( $p < 0,001$ ), com menores níveis no dia 0 e apresentando aumento ao longo do experimento ( $p < 0,001$ ; Figura 6-C).

As concentrações plasmáticas de glicose e nitrogênio ureico sérico (NUS) foram influenciadas pela idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ), mas não pelo sexo, ordem de parto materna e interação entre eles ( $p < 0,001$ ; Tabela 3). As concentrações de glicose apresentaram pico no dia 7 e diminuíram progressivamente ao longo do tempo (Figura 7-A). Não houve efeito de sexo dos bezerros nos níveis séricos de creatinina ( $p > 0,05$ ; Tabela 3), porém ocorreu efeito da idade dos bezerros ( $p < 0,001$ ), com concentrações máximas no dia do nascimento, seguido de uma diminuição aos 7 dias, estabilizando-se até os 140 dias com aumento aos 203 dias em que foi observado uma interação entre ordem de parto materna e idade ( $p < 0,05$ ), com maiores concentrações em bezerros de pluríparas (Figura 7-B). As concentrações eram altas ao nascimento, diminuíram até aos 42 dias e aumentaram até os 140 dias e diminuíram novamente aos 203 dias de idade (Figura 7-C).

## DISCUSSÃO

Em termos de eficiência produtiva, o baixo peso ao nascer pode prejudicar o crescimento pós-natal, o desempenho e as características da carcaça (revisado por Greenwood et al., 2010). O peso ao nascer de bezerros filhos de pluríparas foi maior do que os de primíparas, em média 5,36 kg mais pesados. Esses dados corroboram com outros estudos desenvolvidos com bezerros de mães de corte de diferentes ordens de parto (Patterson et al., 1987; Cundiff et al., 2010; Sapkota et al., 2020; Parsons et al., 2021; Duncan et al., 2023). Segundo Atashi e Asaadi (2019), o peso ao nascer está associado à duração da gestação. De fato, nesse estudo, as mães pluríparas obtiveram maior tempo gestacional e maior produção de leite (Rodrigues, 2024). Estes achados são explicados pelo fato de 75% do peso ao nascimento de bezerros ser adquirido no terço final da gestação, sendo os últimos dias de gestação cruciais nesse período (Bauman e Currie, 1980). Além disso, o menor peso ao nascer de bezerros de vacas primíparas está relacionado ao fato de que vacas mais jovens destinam uma porção relativamente maior da energia consumida para o próprio crescimento, alocando menos recursos para o desenvolvimento fetal, em comparação com vacas pluríparas (Holanda e Odde, 1992).

Bezerros de vacas pluríparas apresentam maior ganho médio diário (GMD) que bezerros de primíparas de 0 a 90 dias e isso se deve a maior produção de leite dessas vacas na lactação (Linden et al., 2014, Sapkota et al., 2020.) De fato, as vacas pluríparas, mães dos bezerros deste estudo, produziram 1,05 Kg a mais de leite do que as vacas primíparas (Rodrigues, 2024), o que corrobora com os relatos descritos em Lopes et al. (2023).

Nos sistemas de produção de corte, a maioria das definições de eficiência vaca-bezerro, ou "produtividade materna", inclui o peso do bezerro ao desmame como um parâmetro fundamental de indicador de desempenho, conseqüentemente, o GMD nesse período é associado diretamente com a eficiência desse sistema (Walmsley et al., 2016, Sapkota et al., 2020). Neste estudo, bezerros filhos de pluríparas apresentaram maior peso corporal durante toda fase pré-desmame em relação aos bezerros de primíparas, mas não houve diferença significativa no GMD no período em que foi ofertado a suplementação a esses animais, sendo este observado apenas entre os sexos, em que bezerros machos obtiveram maior GMD que as fêmeas. Nossos achados estão consistentes com Ferreira et al. (2021) que avaliou o efeito de ordem de parto materna sobre o GMD em bezerros Nelore no período pré-desmame, e Saied et al. (2006) para o efeito do sexo em bezerros Charolês. O GMD similar entre bezerros filhos de pluríparas e filhos de primíparas pode estar relacionado ao maior tempo de pastejo dos bezerros filhos de primíparas. Em um estudo de avaliação comportamental realizado pelo nosso grupo

(Rodrigues, 2020) foi demonstrado que bezerros de primíparas despendiam maior tempo de pastejo em relação aos bezerros de vacas mais velhas, o que pode estar relacionado ao menor consumo de leite produzido pelas primíparas, uma tentativa de suprir as exigências nutricionais através do consumo de forragem, o que ocasionou o GMD semelhantes entre os animais (Baker et al., 1976). A contribuição da mãe para o fenótipo da prole ocorre tanto pela transmissão de fatores genéticos quanto pela expressão de efeitos maternos, que influenciam o peso dos bezerros até o primeiro ano de vida (Rezende et al., 2022). O menor GMD em fêmeas em relação à machos deve-se à menor deposição muscular nesta classe sexual, ao passo que o maior ganho de peso em machos está relacionado à ação da testosterona produzida nas células intersticiais dos testículos que estimula o desenvolvimento muscular e promove a retenção de nitrogênio (Marques et al., 2006; Domaradzki et al., 2016).

O fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF1) desempenha um papel crucial na regulação do crescimento animal, e a restrição nutricional durante o desenvolvimento fetal pode causar mudanças permanentes no eixo IGF (Brameld et al., 2000). No presente estudo, os níveis de IGF1 não foram afetados pela ordem de parto materna no pré-desmame, resultados estes semelhantes aos de Bagu et al. (2009), mas diferentes de outro estudo em que as concentrações de IGF1 em bezerros filhos de vacas pluríparas foram maiores do que em bezerros de primíparas (López Valiente et al., 2021). Como já mencionado, a partição de nutrientes que ocorre em vacas primíparas que ainda não estabeleceram o crescimento pode resultar em restrição de nutrientes para o feto, que pode resultar em menor peso ao nascimento, bem como menores concentrações de IGF1 (López Valiente et al., 2021). De fato, neste estudo, bezerros de primíparas apresentaram menor peso ao nascer, no entanto, as concentrações de IGF1 foram semelhantes entre bezerros de mães de diferentes ordens de parto. Sugerimos que a restrição nutricional ocasionada pela partição de nutrientes entre feto e crescimento materno durante a fase de gestação não foi um fator preponderantemente severo para que ocorresse menor produção de IGF1 em bezerros de primíparas durante o crescimento dos animais na fase de pré desmame, uma vez que quando a restrição nutricional experimentada por ruminantes é moderada, a diminuição na circulação de IGF1 não é aparente (Zulu et al., 2002).

Em bezerros machos, entre 5 e 25 semanas de idade, ocorre um aumento precoce nas concentrações médias de LH sérico, resultante de uma maior frequência dos pulsos endógenos de GnRH à medida em que o animal se aproxima da puberdade (Rodriguez e Wise, 1989; Evan et al., 1994; Bagu et al., 2009). Os pulsos de GnRH irão estimular aumentos na amplitude dos pulsos de FSH e LH, seguidos por uma elevação acentuada na produção de esteroides sexuais

gonadais, o que, por sua vez, estimula a produção do hormônio do crescimento (GH) e do IGF1, o que evidencia a importância do IGF1 no desenvolvimento sexual de machos (Mauras et al., 1996; Sethi et al., 2022). Em nosso estudo, bezerros machos apresentaram maiores concentrações de IGF1 em relação às bezerras fêmeas aos 140 e 203 dias de idade, o que condiz com as afirmações citadas acima. O fato de fêmeas apresentarem menores concentrações pode estar relacionado a dicotomia dos efeitos do andrógeno e do estrogênio no sexo masculino e feminino, que pode regular o momento diferencial do início da puberdade nos dois sexos (Mauras et al., 1996).

O sangue contém diversas proteínas, mas as duas principais, com maior relevância diagnóstica no perfil bioquímico, são a albumina e as globulinas (Russel e Roussel, 2007). A albumina é a proteína mais abundante no sangue, desempenhando papéis cruciais na manutenção da pressão osmótica e no transporte de diversas substâncias, incluindo hormônios, ácidos graxos e medicamentos. As globulinas, por outro lado, constitui um grupo diverso de proteínas que estão envolvidas em funções imunológicas, como os anticorpos, e também no transporte de lipídios e hormônios (Kaneko et al., 1997). As mudanças significativas das concentrações de proteínas totais, globulinas e albumina de acordo com a idade foram similares às obtidas no estudo de Mohri et al. (2007) avaliando proteínas séricas em bezerros leiteiros até 84 dias de idade e Lopreiato et al. (2023) com bezerros Simental avaliados até os 60 dias de idade. Os níveis de proteínas totais e globulinas decrescem após o dia do nascimento devido a degradação das imunoglobulinas adquirida através do consumo de colostro e as concentrações de albumina aumentam com o avanço da idade devido à síntese hepática e seu aumento pode ocorrer como uma resposta compensatória à diminuição da pressão osmótica sérica resultante da redução dos níveis de globulinas (Mohri et al., 2007).

A enzima GGT é encontrada em grandes quantidades na glândula mamária de vacas, por isso suas concentrações são elevadas no colostro bovino e logo após a colostragem, são absorvidas no intestino delgado e transferidas à corrente sanguínea dos bezerros recém-nascidos, o que as torna um bom indicativo de consumo de colostro (Fagliari et al., 1996; Weaver et al., 2000). Esse relato está de acordo com os nossos achados, em que a atividade da GGT foi mais alta no dia do nascimento e diminuiu até se estabilizar a partir dos 14 dias até o fim do estudo independente da ordem de parto materna e sexo dos bezerros. Não há evidências científicas da importância biológica do aumento da atividade GGT e se houver, não é conhecida. A suposição é de que a GGT, em sua maioria, é degradada devido à rápida diminuição no soro de bezerros (Blum e Hammon, 2000).

Assim como a GGT, a enzima AST também apresenta níveis mais elevados no primeiro dia de vida de bezerros após a ingestão de colostro (Fagliari et al., 1996), o que corrobora com os dados obtidos em nosso estudo. A atividade enzimática de AST foi maior em bezerros filhos de primíparas em relação aos bezerros de pluríparas durante todo o estudo, sendo essa atividade maior no dia 0, o que está de acordo com Duncan et al. (2022), que encontraram maior atividade de AST em bezerros de primíparas às 6 e 24 horas de vida. A concentração elevada de AST está relacionada a traumas no nascimento, dano muscular e isquemia (Russel e Roussel, 2007; Pearson et al., 2019) e a atividade aumentada de AST em bezerros de 2 a 4 meses pode estar relacionada a maior ocorrência de miodistrofias (Bouda, 1980). Apesar de não ter sido necessário assistência durante o parto de vacas primíparas e pluríparas, a partir dos nossos resultados, sugerimos que vacas primíparas tiveram um grau de dificuldade maior no parto, o que consequentemente afetou os seus bezerros causando um aumento maior nos níveis de AST em relação aos bezerros de pluríparas, e esse aumento persistiu ao longo de todo o estudo, o que corrobora com a sentença de que um trauma subclínico pode ter efeitos de longo prazo na saúde e produção dos bezerros (Pearson et al., 2019). A ALT é uma enzima citoplasmática e assim como a AST pode indicar danos hepáticos e/ou miocárdicos em bezerros (Rajaian et al., 2008).

Representando mais de 80% das lipoproteínas totais, HDL são as principais lipoproteínas em pré-ruminantes e ruminantes e são sintetizadas e secretadas pelo fígado e pelo intestino delgado. Essas são as principais partículas envolvidas em um sistema de transporte reverso de colesterol, o qual retorna o excesso de colesterol das células periféricas para o fígado para excreção biliar e ressíntese de novas partículas de VLDL (Bauchart, 1993). As concentrações de HDL e colesterol total foram afetadas pelo sexo do bezerro, sendo que fêmeas obtiveram maior concentração desses componentes lipídicos ao longo de todo o estudo. Além disso, o comportamento das concentrações desses metabólitos foi similar com o avanço da idade dos bezerros fêmeas e machos. Estes achados podem ser explicados a partir da relação entre esses dois metabólitos, uma vez que as principais funções do HDL incluem a entrega de colesterol aos tecidos para esteroidogênese, especialmente no fígado, ovários, testículos e glândulas adrenais, assim como para a síntese de membranas em diversos tecidos, como fibroblastos. Além disso, o HDL é responsável pelo transporte de colesterol para fora dos tecidos, como fibroblastos e células musculares lisas arteriais, direcionando-o de volta ao fígado (Bauchart, 1993). Fêmeas e machos castrados tendem a produzir carcaças com maior teor de gordura, enquanto touros jovens geram carcaças com menos gordura externa e interna, além de maior quantidade de massa magra. Esses efeitos estão diretamente relacionados ao estado

hormonal dos animais, observáveis mesmo em idades muito jovens (Irshad et al., 2012) e podem estar relacionados ao conteúdo de colesterol e HDL no sangue desses animais.

Após o parto, ocorre uma rápida diminuição na concentração de estrogênio no plasma de vacas e bezerros. Essa diminuição é acompanhada de uma redução da proliferação do receptor de LDL e aumento progressivo das concentrações de LDL no plasma em bezerros pós-natais e em vacas durante o início da lactação (Bauchart, 1993). Esse relato está de acordo com os dados obtidos neste estudo, em que no período neonatal (7, 14 e 21 dias) bezerros de pluríparas apresentaram maiores concentrações de LDL e embora não significativo, as mães dos bezerros deste estudo apresentaram concentração numericamente maior de LDL (64,90 vs 66.95 mg/dl em média) em relação às vacas primíparas. Além disso, vacas pluríparas produziram leite com maior teor de gordura do que vacas primíparas, o que pode ter contribuído para a maior concentração dessa lipoproteína em bezerros filhos de pluríparas (Rodrigues, 2024).

Os triglicerídeos podem estar abundantemente presentes nos quilomícrons, que são secretados pelo intestino após a ingestão de gordura em bezerros pré-ruminantes. Os triglicerídeos nos quilomícrons podem ser hidrolisados em ácidos graxos não esterificados (AGNEs), os quais são transportados para os tecidos, onde podem ser armazenados como gordura ou oxidados para a produção de energia e partículas de VLDL em bovinos é uma representação do transporte alternativo de triglicerídeos em vasos linfáticos e sanguíneos do intestino, representando 5% das lipoproteínas totais em pré-ruminantes (Laplaud et al., 1990; Bauchart, 1993). Isto está de acordo com o nosso estudo em que as concentrações de triglicerídeos obtiveram comportamento similar às concentrações de VLDL com o avanço da idade dos animais.

A disponibilidade de nutrientes durante o período pré-natal pode afetar a capacidade dos bezerros de regular a concentração de glicose no sangue durante o crescimento pós-natal (Maresca et al., 2018). As concentrações sanguíneas de glicose foram maiores aos 7 dias dos bezerros e diminuíram até o fim do estudo em bezerros independente da ordem de parto materna e sexo, o que corrobora com outros estudos (Yu et al., 2019; Lopreiato et al, 2023). Esse comportamento é comum, pois está diretamente ligado ao crescimento do bezerro, especialmente no que se refere ao desenvolvimento ruminal. À medida que a fermentação microbiana aumenta no rúmen, a quantidade de carboidratos disponíveis para digestão pós-

ruminal diminui, resultando em uma redução no suprimento dietético de glicose (Vi et al., 2004).

Os níveis de creatinina foram influenciados pela ordem de parto aos 203 dias, sendo que bezerros de pluríparas apresentaram maior concentração desse metabólito no soro. Isso se deve, provavelmente, à maior massa muscular adquirida por esses animais, uma vez que a creatinina é produto da creatina e resultado do metabolismo muscular normal e suas concentrações são levemente afetadas pela massa muscular (Russel e Roussel, 2007).

O nitrogênio ureico sérico (NUS) está relacionado ao consumo de proteína na dieta (Kaneko et al., 1997; Cavestany et al., 2005, Russel e Roussel, 2007). De fato, em nosso estudo, o comportamento das concentrações de nitrogênio ureico sérico com o avanço da idade, seguiu comportamento similar a curva de proteínas séricas totais até os 14 dias, independentemente da ordem de parto materna e do sexo dos bezerros. A mudança no padrão de fornecimento de nutrientes dietéticos causa alterações importantes na função hepática e nos processos que necessitam de energia, como a síntese de proteínas e ureia (Vi et al., 2004). Os níveis de nitrogênio ureico sérico aumentaram novamente, apresentando pico aos 140 dias de idade, aumento esse que pode estar relacionado ao consumo de suplemento iniciado aos 90 dias de idade.

Compreender as diferenças entre bezerros de primíparas e de pluríparas relacionadas ao metabolismo e desempenho durante a fase de pré-desmame é essencial para que a otimização de práticas de manejo sejam adotadas na bovinocultura de corte (Meyer e Redifer, 2024). Foi discutido neste estudo como a primiparidade afeta o desenvolvimento da prole, devido, principalmente, à menor experiência materna e limitações na produção de leite, o que pode impactar diretamente no crescimento e saúde de bezerros de corte. Além disso, as diferenças metabólicas entre os sexos dos bezerros, como as variações na deposição de tecido muscular e na utilização de nutrientes, precisam ser consideradas para ajustar a nutrição e o manejo de forma adequada. É fundamental o desenvolvimento de mais estudos que avaliem esses fatores (ordem de parto materna e sexo) isolados ou em conjunto, uma vez, que foi demonstrado aqui que estes podem ter ou não implicações significativas no sistema de produção. Além disso, a investigação desses fatores em animais de diferentes raças e criados em diferentes ambientes faz-se necessárias, uma vez que essas diferenças podem ser ainda mais pronunciadas a depender do fenótipo desses animais, exigindo abordagens específicas para maximizar o potencial produtivo e minimizar os riscos. Outro ponto importante é a extensão do período de avaliação

de animais, uma vez que a maioria dos estudos de metabolismo com bezerros nessa fase são realizados até, no máximo, 120 dias de idade, o que limita a compreensão do desenvolvimento desses animais durante todo o ciclo do período pré-desmame. Portanto, o entendimento profundo desses aspectos é essencial para a adoção estratégias que melhorem a eficiência do sistema de produção, assegurando que todos os bezerros, independentemente da origem materna ou do sexo, atinjam seu máximo desempenho durante o período pré-desmame.

### **CONCLUSÕES**

A ordem de parto materna influencia o desempenho e o metabolismo dos bezerros de corte durante a fase pré-desmame. Bezerros de vacas primíparas apresentam menor peso corporal, maior atividade das enzimas AST e ALT e concentração de HDL na primeira semana de vida em comparação com os de pluríparas. Bezerros machos, por sua vez, demonstram melhores características de desempenho em relação às fêmeas, como maior ganho médio diário e concentrações mais elevadas de IGF-1 ao final do período pré-desmame. Já as bezerras apresentam maiores concentrações de colesterol total e HDL em comparação aos machos.

## REFERÊNCIAS

- Adams, D. C. (1985). Effect of time of supplementation on performance, forage intake and grazing behavior of yearling beef steers grazing Russian wild ryegrass in the fall. *Journal of Animal Science*, 61(5), 1037-1042.
- Atashi H, Asaadi A. (2019). Association between gestation length and lactation performance, lactation curve, calf birth weight and dystocia in Holstein dairy cows in Iran. *Animal reproduction*. 16:846-52.
- Bagu, E. T., Davies, K. L., Epp, T., Arteaga, A., Barrett, D. M., Duggavathi, R., ... & Rawlings, N. C. (2009). The effect of parity of the dam on sexual maturation, serum concentrations of metabolic hormones and the response to luteinizing hormone releasing hormone in bull calves. *Reproduction in domestic animals*, 45(5), 803-810.
- Baker, R. D., Le Du, Y. L. P., & Barker, J. M. (1976). Milk-fed calves: 1. The effect of milk intake upon the herbage intake and performance of grazing calves. *The Journal of Agricultural Science*, 87(1), 187-196.
- Bauchart, D. (1993). Lipid absorption and transport in ruminants. *Journal of dairy science*, 76(12), 3864-3881.
- Bauman D.E., Currie W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of dairy science*, 63(9), 1514-29.
- Blum, J. W., & Hammon, H. (2000). Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science*, 66(2), 151-159.
- Bouda, J., Dvořák, V., Minksová, E., & Dvořák, R. (1980). The activities of GOT, gamma-GT, alkaline phosphatase in blood plasma of cows and their calves fed from buckets. *Acta Veterinaria Brno*, 49(3-4), 193-198.
- Brameld, J. M., Mostyn, A., Dandrea, J., Stephenson, T. J., Dawson, J. M., Buttery, P. J., & Symonds, M. E. (2000). Maternal nutrition alters the expression of insulin-like growth factors in fetal sheep liver and skeletal muscle. *Journal of Endocrinology*, 167(3), 429-438.
- Cavestany, D., Blanc, J. E., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilibroste, P., Meikle, A., ... & Krall, E. (2005). Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: metabolic profiles. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 52(1), 1-7.
- Chegini, A., Zadeh, N. G. H., & Moghadam, H. H. (2015). Effect of calf sex on some productive, reproductive and health traits in Holstein cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(2), 2.
- Choy, Y. H., Lee, J. G., Mahboob, A., Choi, T. J., & Rho, S. H. (2017). Genetic correlation between live body measurements and beef cutability traits in Hanwoo steers. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 30(8), 1074.
- Cook, A. C., Kohli, M. L., & Dawson, W. M. (1951). Relationships of five body measurements to slaughter grade, carcass grade, and dressing percentage in milking shorthorn steers. *Journal of Animal Science*, 10(2), 386-393.

- Croft, E. (2022). *The Effects of Maternal Late Gestation Metabolizable Energy Intake and Parity on Beef Cow-Calf Performance and Metabolism* (Doctoral dissertation, University of Guelph).
- Cundiff, L. V., Van Vleck, L. D., & Hohenboken, W. D. (2010). Guidelines for uniform beef improvement programs. *Beef Improvement Federation*.
- Detmann, E., Silva, L. F. C., Rocha, G. C., Palma, M. N. N., & Rodrigues, J. P. P. (2021). Métodos para análise de alimentos. 2ª Edição. *Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 350*.
- Domaradzki, P., Florek, M., & Litwińczuk, A. (2016). Factors influencing the quality of beef. *54 (2)*, 160-170.
- Duncan, N. B., Stoecklein, K. S., Foote, A. P., & Meyer, A. M. (2023). Dam parity affects fetal growth, placental size, and neonatal metabolism in spring-born beef calves. *Journal of Animal Science, 101*, skac399.
- Eler, J. P. (2017). Teorias e métodos em melhoramento genético animal: bases do melhoramento genético animal. 239p.
- El-Saied, U. M., de la Fuente Ruiz, L., Tirados, F. S. P., & Rodríguez, R. (2006). Genetic parameter estimates for birth and weaning weights, pre-weaning daily weight gain and three type traits for Charolais beef cattle in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research, (2)*, 146-155.
- Evans, A. C. O., Davies, F. J., Nasser, L. F., Bowman, P., & Rawlings, N. C. (1994). Differences in early patterns of gonadotrophin secretion between early and late maturing bulls, and changes in semen characteristics at puberty. *Theriogenology, 43(3)*, 569-578.
- Fagliari, J. J., Oliveira, E. C., Pegorer, M. F., Ferrante, L. C., & Campos Filho, E. (1996). Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 105-112*.
- Favero, R., Menezes, G. D. O., Torres, R. A. A., Silva, L. O. C., Bonin, M. N., Feijó, G. L. D., ... & Gomes, R. D. C. (2019). Crossbreeding applied to systems of beef cattle production to improve performance traits and carcass quality. *animal, 13(11)*, 2679-2686.
- Fernandes, H. J., Tedeschi, L. O., Paulino, M. F., & Paiva, L. M. (2009). Determination of carcass and body fat compositions of grazing crossbred bulls using body measurements. *Journal of Animal Science, 88(4)*, 1442-1453.
- Ferreira, M. F. D. L., Rennó, L. N., Rodrigues, I. I., Detmann, E., Paulino, M. F., de Campos Valadares Filho, S., ... & de Lana, D. S. (2021). Effects of parity order on performance, metabolic, and hormonal parameters of grazing beef cows during pre-calving and lactation periods. *BMC Veterinary Research, 17*, 1-15.
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry, 18(6)*, 499-502.

- Gillespie, A. V., Ehrlich, J. L., & Grove-White, D. H. (2017). Effect of calf gender on milk yield and fatty acid content in Holstein dairy cows. *PLoS one*, *12*(1), e0169503.
- Greenwood, P. L., Bell, A. W., Vercoe, P. E., & Viljoen, G. J. (Eds.). (2010). Managing the prenatal environment to enhance livestock productivity (pp. 1-298). *Springer Netherlands*.
- Hess, M. K., Hess, A. S., & Garrick, D. J. (2016). The effect of calf gender on milk production in seasonal calving cows and its impact on genetic evaluations. *PLoS one*, *11*(3), e0151236.
- Holland, M. D., & Odde, K. G. (1992). Factors affecting calf birth weight: a review. *Theriogenology*, *38*(5), 769-798.
- Hulbert, L. E., & Moisés, S. J. (2016). Stress, immunity, and the management of calves. *Journal of dairy science*, *99*(4), 3199-3216.
- Irshad, A., Kandeepan, G., Kumar, S., Ashish, K. A., Vishnuraj, M. R., & Shukla, V. (2012). Factors influencing carcass composition of livestock: A review. *J. Anim. Prod. Adv*, *3*(1), 1.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (Eds.). (1997). Clinical biochemistry of domestic animals.
- Kappes, R., Schneider, V., Schweizer, H., Nüske, S., Knob, D. A., Neto, A. T., & Scholz, A. M. (2023). Effect of  $\beta$ -casein A1 or A2 milk on body composition, milk intake, and growth in Holstein, Simmental, and crossbred dairy calves of both sexes. *Journal of Dairy Science*, *107*(6), 4033-4044.
- Kertz, A. F., Reutzel, L. F., Barton, B. A., & Ely, R. L. (1996). Body weight, body condition score, and wither height of prepartum Holstein cows and birth weight and sex of calves by parity: A database and summary. *Journal of dairy science*, *80*(3), 525-529.
- Laplaud, P. M., Bauchart, D., Durand, D., & Chapman, M. J. (1990). Lipoproteins and apolipoproteins in intestinal lymph of the preruminant calf, *Bos spp.*, at peak lipid absorption. *Journal of lipid research*, *31*(10), 1781-1792.
- Linden, D. R., Titgemeyer, E. C., Olson, K. C., & Anderson, D. E. (2014). Effects of gestation and lactation on forage intake, digestion, and passage rates of primiparous beef heifers and multiparous beef cows. *Journal of animal science*, *92*(5), 2141-2151.
- Long, J. M., Trubenbach, L. A., Pryor, J. H., Long, C. R., Wickersham, T. A., Sawyer, J. E., & Satterfield, M. C. (2021). Maternal nutrient restriction alters endocrine pancreas development in fetal heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, *74*, 106580.
- Lopes, S.A., Costa e Silva, L.F., Valadares Filho, S.C., Ferreira, M. F. L., Saraiva, D.T, Matos, E. M. A., Paulino, P. V. R., Paulino, M. F., Siqueira, G. R. Exigências nutricionais de vacas de corte lactantes e seus bezerras. In Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados—BR-CORTE, 4th ed.; Valadares Filho, S.C., Saraiva, D.T., Benedeti, P.B., Silva, F.A.S., Chizzotti, M.L., Eds.; Suprema: Vicososa, MG, Brazil, 2023; pp. 299–328.
- López Valiente, S., Rodríguez, A. M., Long, N. M., Quintans, G., Miccoli, F. E., Lacau-Mengido, I. M., & Maresca, S. (2021). Age at first gestation in beef heifers affects fetal and postnatal growth, glucose metabolism and IGF1 concentration. *Animals*, *11*(12), 3393.

- Lopreiato, V., Minuti, A., Trevisi, E., Piccione, G., Ferronato, G., Loor, J. J., ... & Arfuso, F. (2023). Maternal treatment with pegbovigrastim influences growth performance and immune-metabolic status of calves during the pre-weaning period. *Research in Veterinary Science*, *158*, 151-163.
- Maresca, S., Valiente, S. L., Rodriguez, A. M., Long, N. M., Pavan, E., & Quintans, G. (2018). Effect of protein restriction of bovine dams during late gestation on offspring postnatal growth, glucose-insulin metabolism and IGF-1 concentration. *Livestock Science*, *212*, 120-126.
- Marques, J. D. A., Prado, I. N. D., Moletta, J. L., Prado, I. M. D., Prado, J. M. D., Macedo, L. M. A., ... & Matsushita, M. (2006). Carcass and meat traits of feedlot finished heifers submitted to surgical or mechanical anoestrous. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *35*, 1514-1522.
- Mauras, N., Rogol, A. D., Haymond, M. W., & Veldhuis, J. D. (1996). Sex steroids, growth hormone, insulin-like growth factor-1: neuroendocrine and metabolic regulation in puberty. *Hormone Research in Paediatrics*, *45*(1-2), 74-80.
- Mendonça, F. S., MacNeil, M. D., Leal, W. S., Azambuja, R. C., Rodrigues, P. F., & Cardoso, F. F. (2019). Crossbreeding effects on growth and efficiency in beef cow–calf systems: evaluation of Angus, Caracu, Hereford and Nelore breed direct, maternal and heterosis effects. *Translational Animal Science*, *3*(4), 1286-1295.
- Mertens, D. R., & Collaborators: Allen, M., Carmany, J., Clegg, J., Davidowicz, A., Drouches, M., Frank, K., Gambin, D., Garkie, M., Gildemeister, B., Jeffress, D., Jeon, C.S., Jones, D., Kaplan, D., Kim, G.N., Kobata, S., Main, D., Moua, X., Paul, B., Robertson, J., Taysom, D., Thiex, N., Williams, J., Wolf, M. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC international*, *85*(6), 1217-1240.
- Meyer, A. M., & Redifer, C. A. (2024). The curse of the firstborn: Effects of dam primiparity on developmental programming in ruminant offspring. *Animal Reproduction Science*, *265*, 107469.
- Mohri, M., Sharifi, K., & Eidi, S. (2007). Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. *Research in veterinary science*, *83*(1), 30-39.
- National Research Council, Committee on Animal Nutrition, & Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle: 2001*. National Academies Press.
- Parsons, C. T., Dafoe, J. M., Wyffels, S. A., Van Emon, M., DelCurto, T., & Boss, D. L. (2021). Impacts of heifer postweaning residual feed intake classification on reproductive and performance measurements of first-, second-, and third-parity Angus beef females. *Translational Animal Science*, *5*(2), txab061.
- Patterson, D. J., Bellows, R. A., Burfening, P. J., & Carr, J. B. (1987). Occurrence of neonatal and postnatal mortality in range beef cattle. I. Calf loss incidence from birth to weaning, backward and breech presentations and effects of calf loss on subsequent pregnancy rate of dams. *Theriogenology*, *28*(5), 557-571.

- Paulino, M. F., Detmann, E., Valente, E. E. L., & Barros, L. D. (2008). Nutrição de bovinos em pastejo. *Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem*, 4, 131-169.
- Pearson, J. M., Homerosky, E. R., Caulkett, N. A., Campbell, J. R., Levy, M., Pajor, E. A., & Windeyer, M. C. (2019). Quantifying subclinical trauma associated with calving difficulty, vigour, and passive immunity in newborn beef calves. *Veterinary record open*, 6(1), e000325.
- Quaresma, M., Rodrigues, M., Medeiros-Sousa, P., & Martins, A. (2020). Calf-sex bias in Holstein dairy milk production under extensive management. *Livestock Science*, 235, 104016.
- Rajaian, H., Nazifi, S., Fazeli, M., Poorbaghi, S. L., Sepehrimanesh, M., & Ghezelbash, A. (2008). Effects of various oral doses of salinomycin on serum biochemical parameters in calves. *Comparative Clinical Pathology*, 18, 233-237.
- Rezende, M. P. G., Malhado, C. H. M., Biffani, S., Carrillo-Tabakman, J. A., Fabbri, M. C., Crovetto, A., ... & Bozzi, R. (2022). Heritability and genetic correlation of body weight and Kleiber ratio in Limousin and Charolais beef cattle breeds. *Animal*, 16(5), 100528.
- Rodrigues, I. I. Comportamento pré e pós-parto de fêmeas Nelore de diferentes ordens de parto e suas bezerras em pastejo. 2020. *Dissertação (Mestrado em Zootecnia)* – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2020.
- Rodrigues, I. I. Efeito da ordem de parto de vacas nelore em pastejo: estresse no periparto, metabolismo e produção de leite. 2024. *Tese (Doutorado em Zootecnia)* – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2024.
- Rodriguez RE, Wise ME. (1989). Ontogeny of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the bull calf during infantile and pubertal development. *Endocrinology*, 124(1), 248-56.
- Russell, K. E., & Roussel, A. J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(3), 403-426.
- Sapkota, D., Kelly, A. K., Crosson, P., White, R. R., & McGee, M. (2020). Quantification of cow milk yield and pre-weaning calf growth response in temperate pasture-based beef suckler systems: A meta-analysis. *Livestock Science*, 241, 104222.
- Sethi, M., Shah, N., Mohanty, T. K., Bhakat, M., & Baithalu, R. K. (2022). New dimensions on maternal and prepubertal nutritional disruption on bull fertility: A review. *Animal Reproduction Science*, 247, 107151.
- Šlyžienė, B., Mečionytė, I., Žilaitis, V., Butkienė, E., Anskienė, L., Šlyžius, E., & Palubinskas, G. (2023). The Association between Charolais Cows' Age at First Calving, Parity, Breeding Seasonality, and Calf Growing Performance. *Animals*, 13(18), 2901.
- Valente, T. N. P., Detmann, E., Queiroz, A. C. D., Valadares Filho, S. D. C., Gomes, D. I., & Figueiras, J. F. (2011). Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 2565-2573.

- Vi, R. B., McLeod, K. R., Klotz, J. L., & Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of dairy science*, 87, E55-E65.
- Walmsley, B. J., Lee, S. J., Parnell, P. F., & Pitchford, W. S. (2016). A review of factors influencing key biological components of maternal productivity in temperate beef cattle. *Animal Production Science*, 58(1), 1-19.
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., Van Metre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of veterinary internal medicine*, 14(6), 569-577.
- Yu, K., Canalias, F., Solà-Oriol, D., Arroyo, L., Pato, R., Saco, Y., ... & Bassols, A. (2019). Age-related serum biochemical reference intervals established for unweaned calves and piglets in the post-weaning period. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 123.
- Zulu, V. C., Nakao, T., & Sawamukai, Y. (2002). Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(8), 657-665.

## ANEXO C

**Tabela 1.** Proporções de ingredientes do suplemento fornecido aos bezerros com base em % de matéria seca e composição química do suplemento e da *Urochloa decumbens*.

Item	Suplemento	<i>Urochloa decumbens</i>		
		<sup>3</sup> Seca-Águas	<sup>4</sup> Águas	<sup>5</sup> Águas-seca
Farelo de soja	67,52	-	-	-
Farelo de milho	30,48	-	-	-
<sup>1</sup> Ureia: AS	2,0	-	-	-
<b><sup>2</sup>Composição química (g/kg DM)</b>				
MS	880,01	408,22	370,23	350,6
MO	-	900,38	901,91	909,54
PB	251,7	83,07	95,26	70,66
FDNcp	146,6	699,06	671,33	711,41
FDNi	-	288,38	230,44	262,41

<sup>1</sup>Ureia:sulfato de amônia (9:1)

<sup>2</sup>MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; FDNcp, fibra em detergente neutro corrigido pra cinzas e proteína; FDNi, fibra indigestível em detergente neutro.

<sup>3</sup>Período compreendido entre setembro e novembro; <sup>4</sup>período compreendido entre dezembro e fevereiro e <sup>5</sup>período compreendido entre março e maio.

Composição da mistura mineral: CaHPO<sub>4</sub> = 50.00%; NaCl = 47.63%; ZnSO<sub>4</sub> = 1.5%; CuSO<sub>4</sub> = 0.75%; CoSO<sub>4</sub> = 0.05%; KIO<sub>3</sub> = 0.05% e MnSO<sub>4</sub> = 0.025%.

**Tabela 2.** Desempenho e ganho médio diário de bezerros Red Angus x Nelore em pastejo de acordo com a ordem de parto materna e o sexo.

Item	OPM		Sexo		EPM	p-valor		
	BPRI	BPLU	Fêmea	Macho		OPM	Sexo	OPM*S
PCi, Kg	30,29b	35,65a	32,71	33,24	1,32	0,008	0,78	0,74
PCf, Kg	211,94b	228,96a	215,29	225,81	5,91	0,025	0,17	0,66
GMD 0-90, kg	0,73b	0,86a	0,75	0,83	0,03	0,01	0,15	0,18
GMD 90-203, kg	1,01	1,02	0,95b	1,08a	0,04	0,66	0,003	0,24
GMD 0-203, kg	0,89	0,94	0,86b	0,97a	0,09	0,180	0,006	0,71

GMD<sub>0-90</sub> - Ganho médio diário no período compreendido entre 0 e 90 dias de idade; GMD<sub>90-203</sub> - Ganho médio diário no período compreendido entre 90 e 203 dias de idade, kg; GMD<sub>0-203</sub> - Ganho médio diário durante todo o período pré-desmame.

PCi- Peso ao nascer; PCf- Peso ao final do período pré-desmame; BPRI- Bezerros filhos de primíparas; BPLU- Bezerros filhos de pluríparas;

OPM- Ordem de parto materna; S-Sexo. Médias com letras distintas diferem entre si (p<0,05).

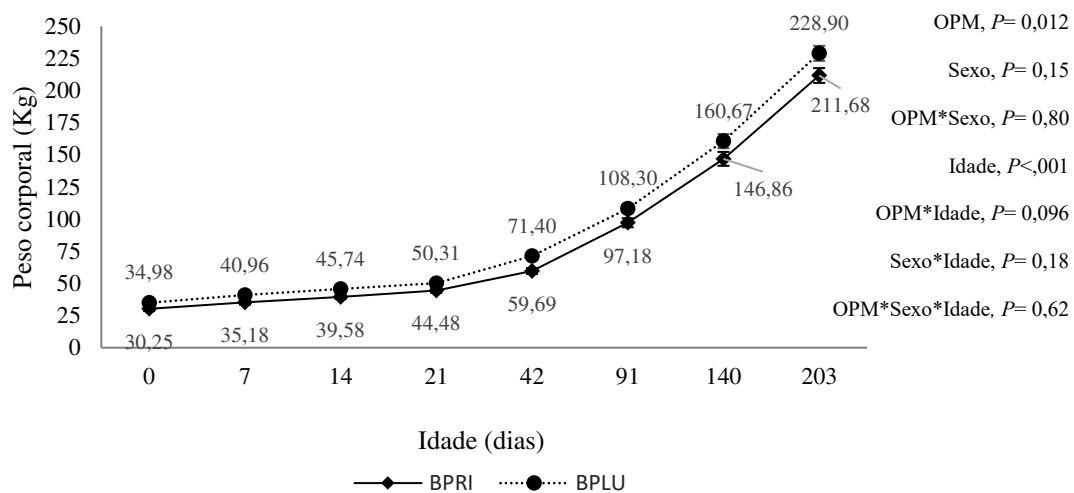
**Tabela 3.** Concentrações médias de metabólitos em bezerros Red Angus x Nelore de acordo com a ordem de parto materna e sexo no período pré-desmame em pastejo

Itens	OPM		Sexo		EPM	p-valor						
	BPRI	BPLU	Fêmea	Macho		OPM	S	OPM*S	I	OPM*I	S*I	OPM*S*I
<sup>1</sup> IGF-1	188,58	172,12	169,15	191,55	11,33	0,31	0,173	0,11	<,001	0,16	0,031	0,59
<sup>2</sup> Proteínas totais	58,52	57,63	57,12	59,03	1,38	0,50	0,165	0,066	<,001	0,62	0,078	0,13
<sup>2</sup> Globulinas	28,69	28,05	27,65	29,09	1,44	0,67	0,342	0,092	<,001	0,49	0,076	0,44
<sup>2</sup> Albumina	29,87	29,64	29,61	29,9	0,38	0,55	0,477	0,62	<,001	0,62	0,25	0,71
<sup>3</sup> Colesterol total	98,78	107,37	109,22a	96,93b	3,59	0,10	0,022	0,38	<,001	0,32	0,17	0,20
<sup>3</sup> HDL	57,91	64,77	68,08a	54,59b	3,45	0,16	0,009	0,88	<,001	0,001	0,38	0,13
<sup>3</sup> LDL	28,07	33,44	30,67	30,83	5,24	0,18	0,96	0,37	<,001	0,030	0,24	0,086
<sup>3</sup> VLDL	11,45	9,85	10,22	11,07	0,69	0,064	0,31	0,42	<,001	0,23	0,34	0,24
<sup>3</sup> Triglicerídeos	58,07	51,66	53,12	56,61	2,93	0,13	0,40	0,16	<,001	0,16	0,44	0,42
<sup>4</sup> ALT	14,74a	12,25b	13,65	13,34	0,42	<,001	0,59	0,75	<,001	0,057	0,79	0,089
<sup>4</sup> AST	54,97a	49,42b	52,87	52,87	1,75	0,026	0,56	0,78	<,001	0,79	0,65	0,37
<sup>4</sup> GGT	597,32	546,31	557,99	585,64	188,31	0,84	0,91	0,87	<,001	0,99	0,99	0,99
<sup>3</sup> Creatinina	1,21	1,22	1,23	1,20	0,04	0,81	0,59	0,58	<,001	0,017	0,14	0,32
<sup>3</sup> Glicose	107,5	109,62	107,14	109,98	2,08	0,34	0,48	0,28	<,001	0,66	0,16	0,17
<sup>3</sup> NUS	7,28	6,71	7,4	6,59	0,41	0,27	0,13	0,35	<,001	0,91	0,67	0,40

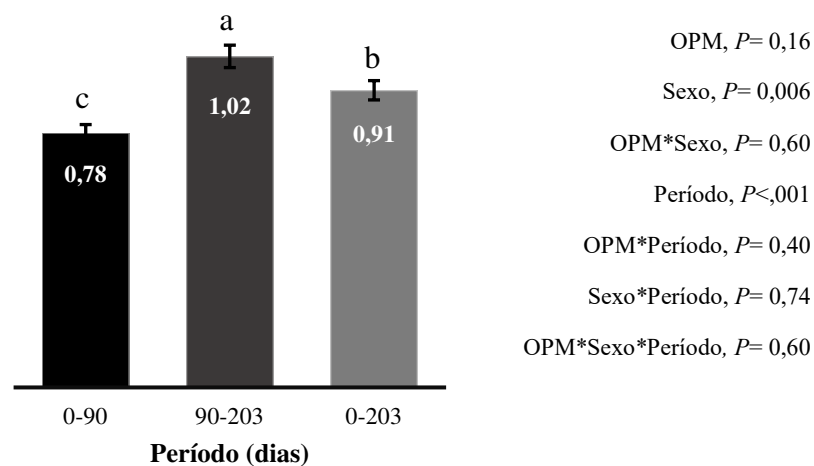
BPRI- bezerros filhos de primíparas; BPLU- bezerros filhos de pluríparas; HDL- lipoproteínas de alta densidade; LDL- lipoproteína de baixa densidade; VLDL- lipoproteína de muita baixa densidade; AST-aspartato aminotransferase; ALT- alanina aminotransferase; GGT-  $\gamma$ -glutamil transferase; NUS- nitrogênio ureico sérico; OPM- ordem de parto materna; S-sexo; I-idade.

<sup>1</sup>ng/ml; <sup>2</sup>g/L; <sup>3</sup>mg/dL; <sup>4</sup>U/L.

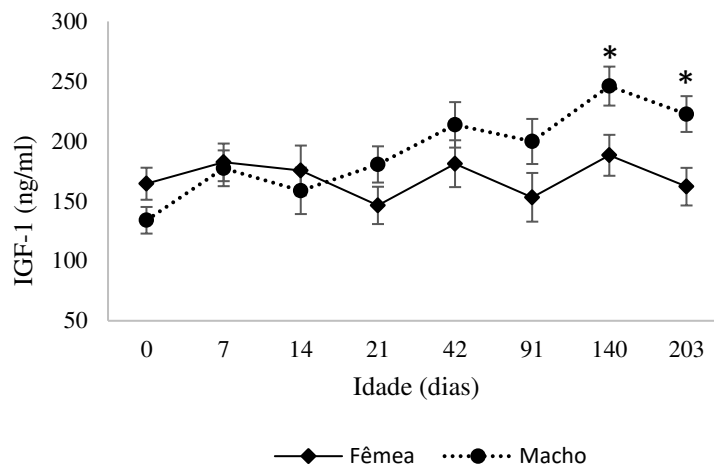
Médias com letras diferentes diferem entre si (P < 0,05).



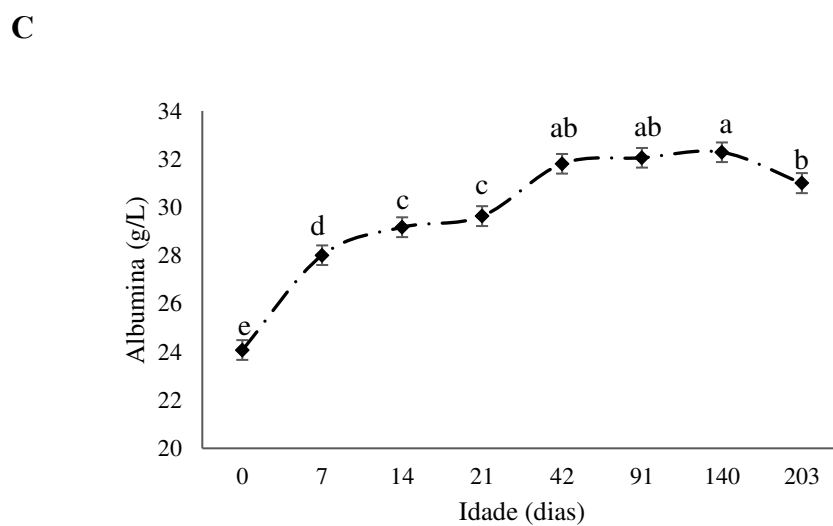
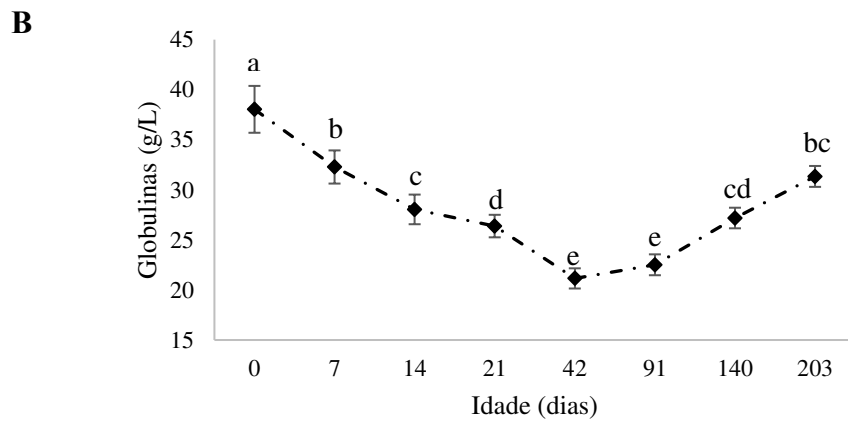
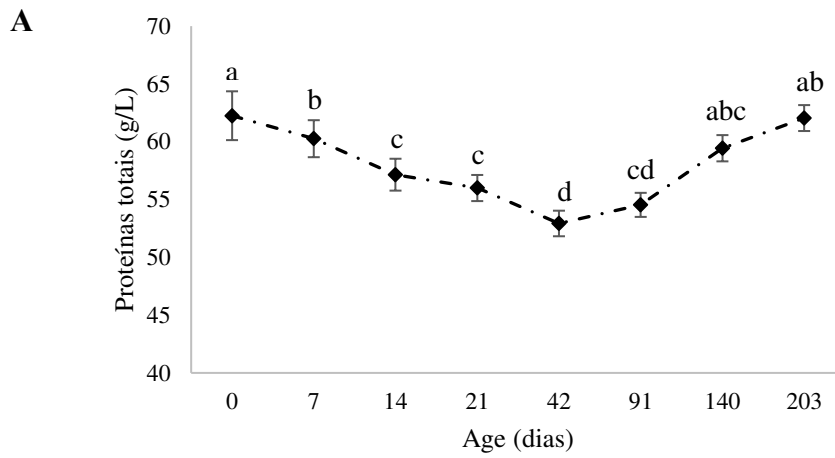
**Figura 1.** Desempenho de acordo com a idade de bezerros Red Angus x Nelore, filhos de vacas primíparas (BPRI) e vacas pluríparas (BPLU) em pastejo.



**Figura 2.** Ganho médio diário, em Kg, de bezerros Red Angus x Nelore nos diferentes períodos (0-90, Nascimento a 90 dias de idade; 90-203, 90 a 203 dias de idade; 0-203, Nascimento até 203 dias de idade). Médias com letras minúsculas distintas diferem entre os períodos ( $P < 0,05$ ).

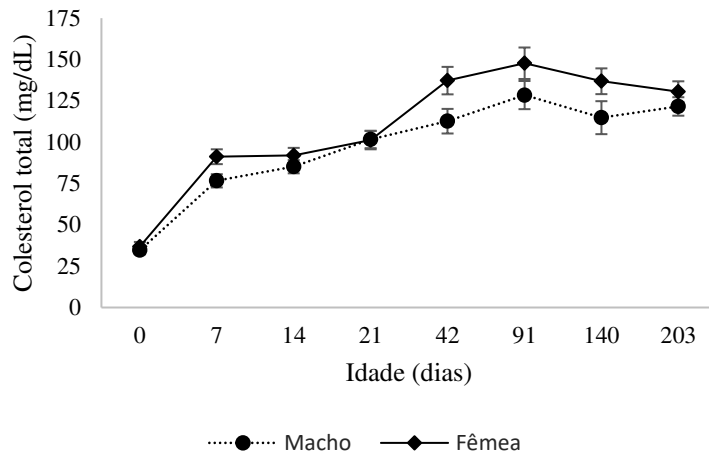


**Figura 3.** Concentrações sanguíneas de IGF-1 de acordo com o sexo e idade de bezerros Red Angus x Nelore em pastejo. Dias com asteriscos (\*) são significativamente diferentes entre as ordens de parto materna ( $P < 0,05$ ).

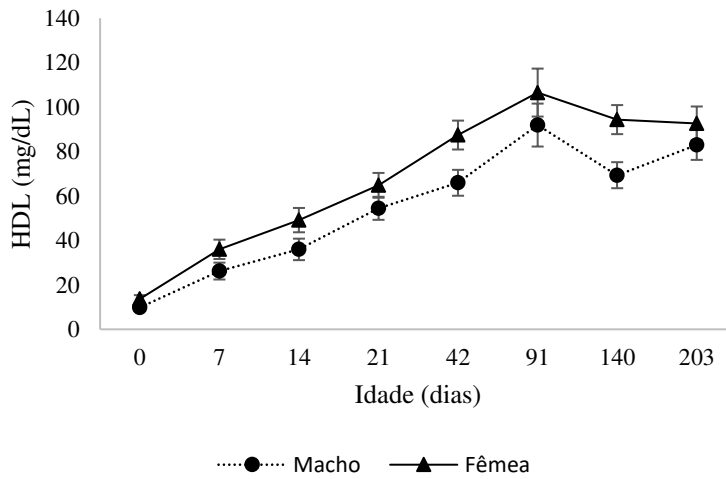


**Figura 4.** Concentrações sanguíneas de proteínas totais (A), globulinas (B) e albumina (C) de acordo com a idade em bezerros Red Angus x Nelore em pastejo. Médias com letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

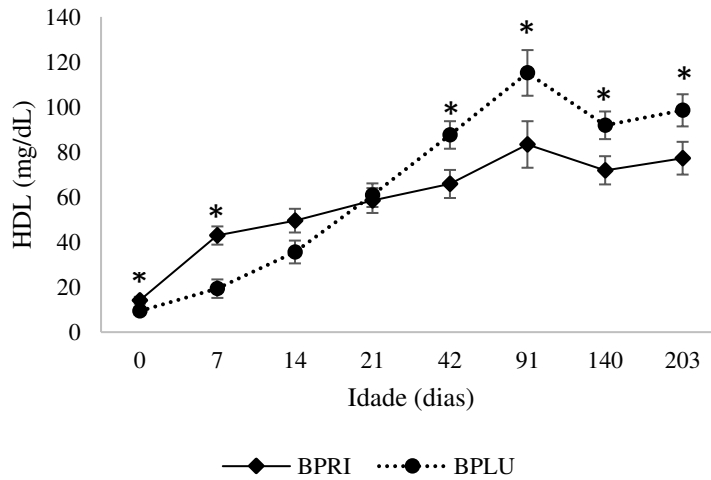
A

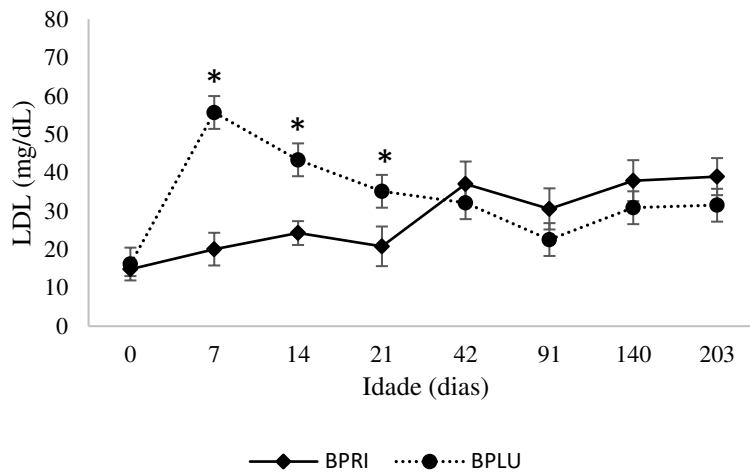
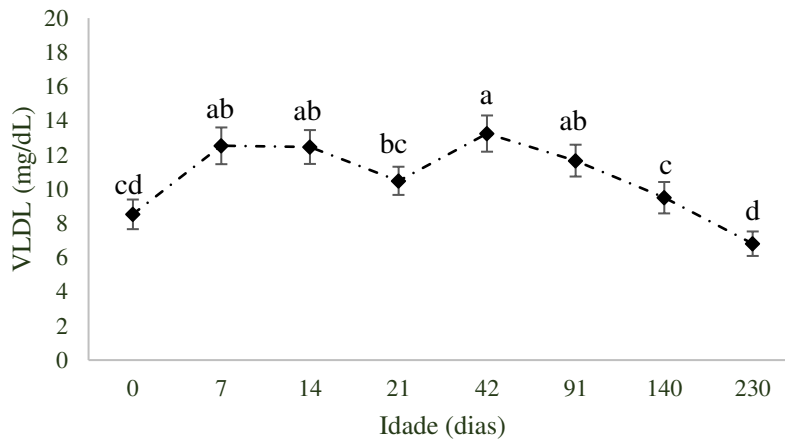
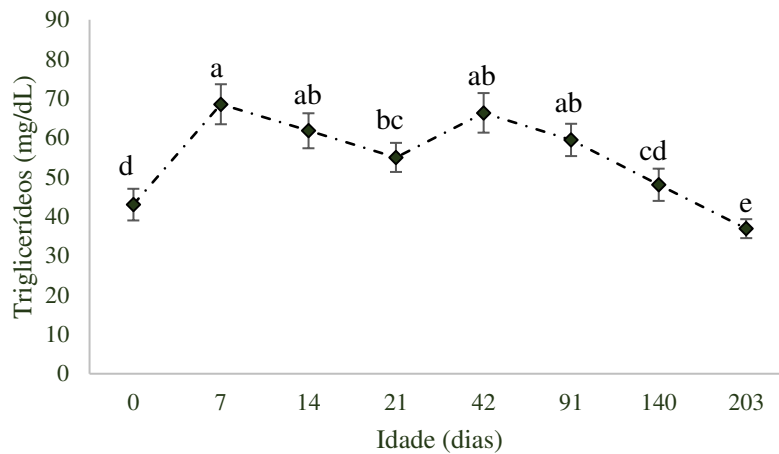


B-1



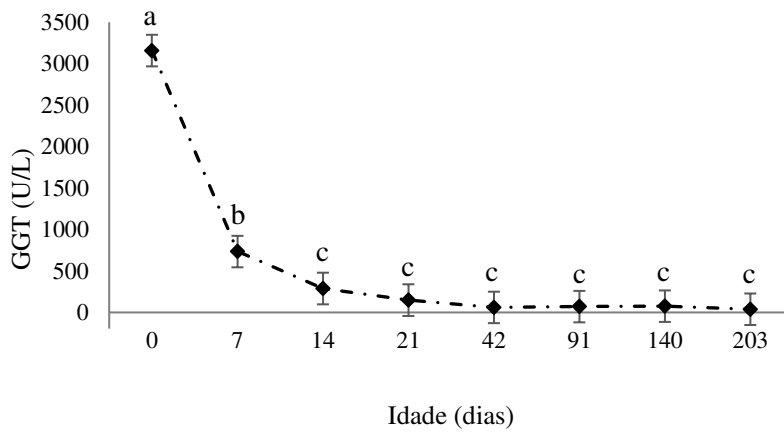
B-2



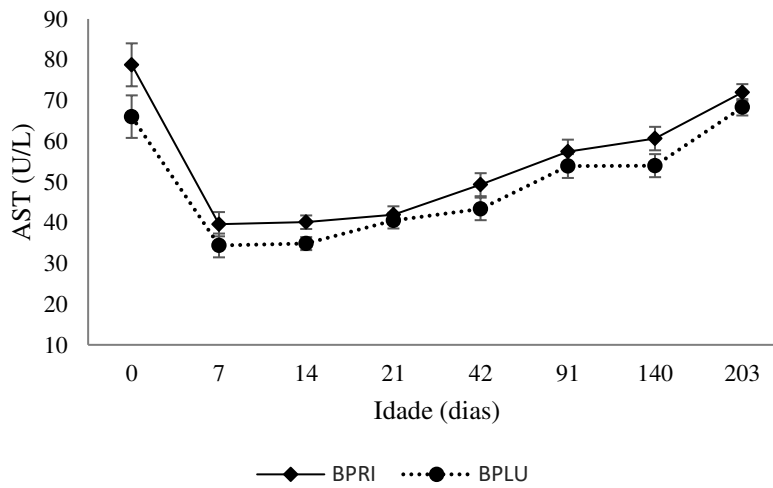
**C****D****E**

**Figura 5.** Concentrações sanguíneas de colesterol total (A), HDL (B), LDL (C), VLDL (D) e triglicerídeos (E) de acordo com a idade e sexo em bezerros Red Angus x Nelore, filhos de vacas primíparas (BPRI) e vacas pluríparas (BPLU) sob pastejo. Dias com asteriscos (\*) são significativamente diferentes entre as ordens de parto materna ( $P < 0,05$ ). Médias com letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

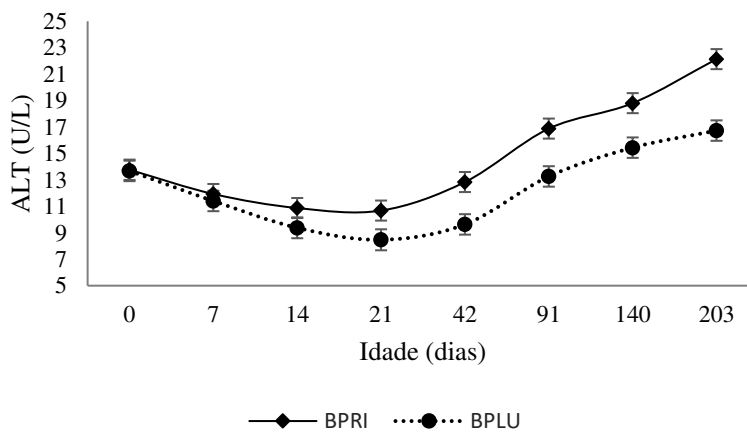
A



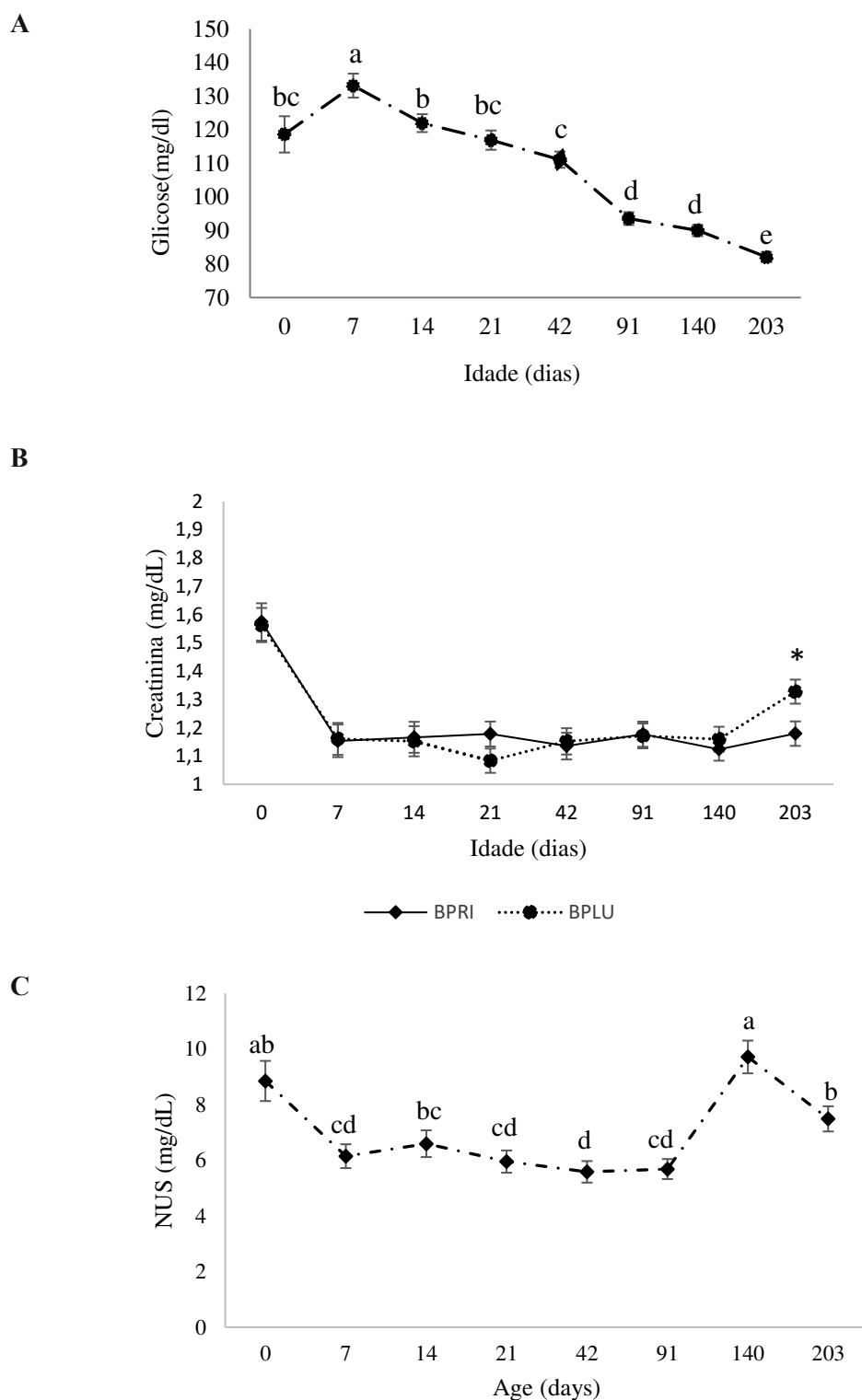
B



C



**Figura 6.** Atividade enzimática de GGT (A), AST (B) e ALT (C) de acordo com a idade em bezerros Red Angus x Nelore, filhos de vacas primíparas (BPR) e vacas pluríparas (BPL) sob pastejo. Médias com letras distintas diferem entre si ( $P < 0,05$ ).



**Figura 7.** Concentrações sanguíneas de glicose (A), creatinina (B) e NUS (C) de acordo com a idade em bezerros Red Angus x Nelore, filhos de vacas primíparas (BPRI) e vacas pluríparas (BPLU) sob pastejo. Dias com asteriscos (\*) são significativamente diferentes entre as ordens de parto materna ( $P < 0.05$ ). Médias com letras diferentes diferem entre si ( $P < 0.05$ ).

## **CONCLUSÃO GERAL**

O refratômetro brix óptico e o método de avaliação de globulinas apresentaram o melhor desempenho na avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de corte neonatos. Do ponto de vista prático, é recomendado o uso do refratômetro brix óptico por apresentar melhor relação custo-benefício em nível de fazendas.

A ordem de parto materna não afeta os níveis de imunoglobulina G em bezerros neonatos de corte. No entanto, suas concentrações são influenciadas pela idade do bezerro, sendo maiores nos primeiros dias e diminuindo ao longo do tempo. Bezerros de corte nascidos de vacas de primeiro parto apresentam respostas ao estresse mais intensas em comparação com aqueles nascidos de vacas pluríparas, sobretudo os bezerros machos.

A ordem de parto materna influencia o desempenho e o metabolismo dos bezerros de corte durante a fase pré-desmame. Bezerros de vacas primíparas apresentam menor peso corporal, maior atividade das enzimas AST e ALT e concentração de HDL na primeira semana de vida em comparação com os de pluríparas. Bezerros machos, por sua vez, demonstram melhores características de desempenho em relação às fêmeas, como maior ganho médio diário e concentrações mais elevadas de IGF-1 ao final do período pré-desmame. Já as bezerras apresentam maiores concentrações de colesterol total e HDL em comparação aos machos.