

JOÃO VITOR MENEZES LOPES

**Influência da Paridade (Categoria) e Faixa Etária na Composição do  
Colostro e Leite de Vacas da Raça Gir Leiteiro**

São Paulo

2021

JOÃO VITOR MENEZES LOPES

**Influência da Paridade (Categoria) e Faixa Etária na Composição do  
Colostro e Leite de Vacas da Raça Gir Leiteiro**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

**Departamento:**

Reprodução Animal

**Área de Concentração:**

Reprodução Animal

**Orientadora:**

Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi

São Paulo

2021

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4098  
FMVZ

Lopes, João Vitor Menezes  
Influência da paridade (categoria) e faixa etária na composição do colostro e leite de vacas da raça Gir Leiteiro / João Vitor Menezes Lopes. – 2021.  
68 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2021.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi.

1. Gir Leiteiro. 2. Colostro. 3. Leite. 4. Imunoglobulina. 5. Proteína. I. Título.



## Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Influência da Paridade (Categoria) e Faixa Etária na Composição do Colostro e Leite de Vacas Gir Leiteiro", protocolada sob o CEUA nº 6462230418 (p.000001), sob a responsabilidade de **Camilla Infantsi Vannucchi** e equipe: João Vitor Menezes Lopes - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 04/09/2019.

We certify that the proposal "Influence of parity and age range on colostrum and milk composition in Gir cows. ", utilizing 30 Bovines (30 females), protocol number CEUA 6462230418 (p.000001), under the responsibility of **Camilla Infantsi Vannucchi** and team: João Vitor Menezes Lopes - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/04/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2018** a **06/2020**

Área: **Reprodução Animal**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **30 a 240 meses**

N: **30**

Linhagem: **Gir Leiteiro**

Peso: **365 a 900 kg**

Local do experimento: **Propriedades parceiras**

São Paulo, 03 de agosto de 2021

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

Camilla Nota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: LOPES, João Vitor Menezes

Título: **Influência da Paridade (Categoria) e Faixa Etária na Composição do Colostro e Leite de Vacas da Raça Gir Leiteiro**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Ciências

DATA \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

*A Deus, por sempre guiar meus caminhos, trazendo sabedoria e força!*

*A todos os animais que passaram por minha vida, me deram o prazer de sua companhia e tiveram contribuição máxima para trilhar meu caminho com amor, satisfação e dedicação.*

*Aos meus pais Márcia e João Luiz, por me ensinarem os princípios e os valores e além de tudo ao auxílio da minha educação.*

*Ao Gustavo por estar presente em todos os momentos, principalmente durante esses anos do Mestrado, me trazendo paz, apoio, força e a certeza para seguir em frente.*

*A minha irmã Gabriela, minha Avó Maria, minha tia Dinah e aos meus padrinhos Paulo e Anair, por todo apoio e ajuda conferidos, me impulsionando a crescer cada vez mais e buscar a realização dos meus sonhos.*

*A equipe do LIAPP, por todo meu crescimento profissional e pessoal com o convívio com pessoas tão incríveis.*

*A Lorena e a Rhuna, meus anjos!*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter guiado meus caminhos, me trazendo sabedoria, iluminando meus pensamentos e escolhas para que eu me tornar-se o que sou hoje. Sem minha fé não teria conseguido chegar e alcançar voos tão altos.

A todos os animais que fizeram parte da minha vida e da minha trajetória durante estes 26 anos. A eles meu agradecimento máximo, pois sem a convivência o amor da convivência, não teria me tornado a pessoa e o profissional que sou hoje. Em especial o agradecimento a todos os animais que passaram por mim durante estes anos de mestrado, principalmente a Lorena (que virou mais uma estrela no céu) e a Rhuna, que foram meus anjos, minhas companheiras e minha zona de escape frente a metrópole. Agradeço por todos os momentos vividos, pelas alegrias imensas, amor, carinho e afeto que puderam transbordar a todos.

Aos meus pais, por terem me proporcionado o conhecimento, a educação familiar e a honestidade sempre. São espelhos de uma boa educação, um trabalho justo, honesto e eficiente, feito com dedicação e amor. Agradeço o apoio incondicional a me proporcionar educação, e que não se permite que coisas importantes ao crescimento de uma pessoa faltasse. Obrigado por me impulsionarem, a buscar mais pelas coisas e enfrentar um mundo de desafios e oportunidades, sem se esquecer de quem eu sou e de onde vim.

Ao Gustavo por ser essa pessoa incrível por estar sempre presente e disponível para o que eu precisar. Obrigado pela ajuda em todos os momentos da minha vida, sejam os ruins e os bons. Obrigado por ter me ajudado fielmente durante meu experimento, só nos sabemos como foram difíceis aqueles dias e aquelas noites, com escorpiões, muita lama e atoleiros e trovoadas. Ir para uma cidade diferente, alugar um carro e dirigir por 2 horas e meia foram uma das aventuras mais diferentes que podemos ter vividos. Os dias na fazenda foram muito diferentes com você, podemos ter diferentes contatos e fazer boas amizades com pessoas incríveis. Obrigado por tudo!

A minha irmã pelo apoio incondicional para meu crescimento pessoal e profissional, a quem sempre acreditou que eu era capaz e quem acredita incessante mente no meu potencial. Obrigado por sempre estar presente, sendo amiga, conselheira e forte como é! Agradecimento também a minha avó, grande história de vida, exemplo de vida para todos nós, mulher forte e guerreira que enfrentou um mundo sozinha, viúva com 4 filhos pequenos para criar e sendo costureira, a ela meu muito obrigado pelos ensinamentos de vida, sabedoria sobre as coisas do mundo, força incondicional para saber vencer cada etapa da vida, com consciência do certo e a grande educação e humildade de sempre. A minha tia Dinah por me ajudar sempre que possível, me dando forças e acreditando no meu potencial e incentivando a buscar cada vez mais conhecimento e aperfeiçoamento.

Aos meus padrinhos pela ajuda desde o início da graduação, e nos primeiros meses em São Paulo, que não foram fáceis e sem vocês tudo poderia ter sido diferente. Obrigado também a todos os meus familiares que ajudaram ou contribuíram de alguma forma para que hoje, este sonho pudesse ser realizado com êxito.

Agradeço a oportunidade de poder ter convivido com pessoas fantásticas durante estes dois anos, em especial as pessoas do LIAPP que pude conviver e que tornaram grandes e especiais amigos. Claudia por ter sido uma grande mãe e acolhido durante minha fase de transição de chegada a São Paulo, Ao Renato por ter sido um grande amigo e me ajudado a passar por todos os momentos, obrigado por ser um irmão. A Letícia que se tornou uma das pessoas mais especiais que eu pude ter o prazer de encontrar na vida, pura, sincera e espontânea, pude ter os momentos mais divertidos com ela e nossos plantões petmilk. A Patrícia, pessoa iluminada, alto astral que gostaria sempre de ter por perto para que o ambiente se transformasse energeticamente em coisas boas, Obrigado Patty por todas as conversas, ajudas e momentos divertidos que passamos juntos. A Renata, que durante o primeiro ano do meu mestrado foi uma grande amiga e companheira, sempre sabia, calma e centrada. A Marcella e a Julia por terem sido grandes estagiarias, com grande empenho em busca de



conhecimento e se doando a sempre ao novo em busca novas experiencias conhecimento, indo até para a fazenda, meu muito obrigado!

Na vida sempre achei que a partir de uma certa idade não conseguiria mais fazer grandes amigos, já eram poucos e escassos, mas a vida me mostrou que amigos de verdade aparecem em qualquer momento da vida e fazem ela se transformar! A minha grande amiga Julia, ao qual também dedico todos esses anos, tornou-se minha família em São Paulo, pude viver cada momento mais que especial ao seu lado, com muitos perrengues e muitas alegrias também, podemos dizer que já vivemos de tudo um pouco durante esses anos juntos e eu te agradeço por ter sido minha família, meu porto seguro e meus momentos bons e felizes, Obrigado também pelo enorme acolhimento da sua família comigo, que hoje sinto que faz parte de mim e parte da minha família também, amo vocês!

Ao meu grande amigo e irmão Felipe, por também ter se tornado minha família em São Paulo, quem eu sempre levarei comigo. Agradeço a todos os momentos e a sua amizade incondicional, seu grande caráter e grande coração, obrigado por tudo! Ao meu amigo Erick, ao qual compartilho muitos gostos, como o da pescaria! Obrigado por sempre estar disposto a ajudar, independente da situação.

A minha grande amiga Mônica, símbolo de sabedoria, alegria, foco e força! Obrigado pelos enormes conselhos, por me ajudar sempre que possível nas dificuldades e assuntos delicados, nas idas as feiras e ao supermercado e nos jejuns intermitentes de final de semana e fim de mês.

A todos os amigos que eu pude fazer como o Denner, Raphaela, Gabriel, Vivian, Paco. Todos tiveram grande importância no meu crescimento.

Em especial agradeço a minha orientadora Camila por ter acreditado em mim e na minha proposta de projeto, obrigado por não ter desistido de tudo isso junto comigo, me moldando e me aprimorando para que tudo pudesse ser feito da melhor forma possível. Obrigado também a minha ex orientadora e hoje grande

amiga Tayse, por ter me mostrados os caminhos e acreditado em mim quando nem eu mesmo acreditava, sem você nada disso poderia ter sido feito.

E por último e não menos importante, a um grande amigo que surgiu aos 45 minutos do segundo tempo, e que pode me fazer perceber que as coisas devem ser levadas “de boa mano”, respeitando meu tempo e minhas limitações, sem deixar de acreditar que é possível. Obrigado pela enorme força nessa reta final e por ter me ajudado a terminar esta dissertação com êxito! Obrigado Daniel.

Agradeço também ao Dr Evandro Guimarães por ter cedido as Fazendas do Basa para a realização deste experimento e todo apoio conferido. Aos funcionários a toda ajuda e apoio prestados em especial ao Celso e o Manuel, além da Marta e o Messias que ajudaram a tornar tudo tão mais fácil e leve, sempre muito prestativos e hospitaleiros.

## **EPIGAFRE**

“Os sonhos não determinam o lugar que você vai estar, mas produzem a força necessária para o tirar do lugar em que está.”

Augusto Cury

## RESUMO

LOPES, J. V. M. **Influência da Paridade (Categoria) e Faixa Etária na Composição do Colostro e Leite de Vacas da Raça Gir Leiteiro** [Influence of Parity (Category) and Age on the Composition of Colostrum and Milk of Gir Dairy Cows] 2021. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A pecuária vem ganhando força nos últimos anos no Brasil. A busca por animais adaptados ao clima tropical e ao manejo a pasto com baixa suplementação se destaca entre o Zebu brasileiro. Apesar do Zebu ser rústico e possuir características econômicas importantes, suas características relacionadas ao processo de parto e principalmente cuidados e manejos dos bezerros; da composição do colostro e leite; dos efeitos das categorias relacionadas aos números de partos e a idade dos animais, ainda não são descritas. Os objetivos desta pesquisa foram avaliar e comparar a composição proteica, imunológica e características físico-químicas do colostro e leite de fêmeas bovinas da raça Gir, segundo a categoria animal e à paridade das fêmeas. Não foi observado diferença estatística entre os grupos primíparas e pluríparas, nem em relação a idade (jovem, adulta e sênior) para as características proteicas, imunológicas e físico-químicas do colostro, leite de transição e leite nos tempos avaliados de 0 horas, 24 horas e 120 horas. Em conclusão A composição proteica, imunológica e as características físico-químicas do colostro e leite de animais Gir Leiteiro, não obtiveram diferença estatística entre os grupos de acordo com a paridade e em relação a idade dos animais. Ressalta a importância da utilização de matrizes mais velhas na reprodução, sem trazer prejuízos quanto as características proteicas, imunológicas e para seus neonatos. Apesar de possuírem particularidades específicas de diferenças para produção de alfa-lactoalbumina entre as idades, seus padrões de produção de proteínas do soro lácteo seguem um padrão para bovinos.

Palavras-chave: Gir Leiteiro, caracterização, proteína, imunoglobulina, físico-química.

## ABSTRACT

LOPES, J. V. M. **Influence of Parity (Category) and Age on the Composition of Colostrum and Milk of Gir Dairy Cows** [Influência da Paridade (Categoria) e Faixa Etária na Composição do Colostro e Leite de Vacas da Raça Gir Leiteiro] 2021. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Livestock has been gaining strength in recent years in Brazil. The search for animals adapted to the tropical climate and to pasture management with low supplementation stands out among the Brazilian Zebu. Although Zebu is rustic and has important economic characteristics, its characteristics are related to the birth process and especially the care and handling of the calves; the composition of colostrum and milk; of the effects of the categories related to the number of births and the age of the animals, are not yet described. The objectives of this research were to evaluate and compare the protein composition, immunological and physicochemical characteristics of colostrum and milk from gyr breed bovine females, according to animal category and female parity. There was no statistical difference between the primiparous and pluriparous groups, nor in relation to age (young, adult and senior) for the protein, immunological and physicochemical characteristics of colostrum, transitional milk and milk in the evaluated times of 0 hours, 24 hours and 120 hours. In conclusion The protein composition, immunological and physicochemical characteristics of colostrum and milk from Gir Leiteiro animals did not obtain statistical difference between the groups according to parity and in relation to the age of the animals. It emphasizes the importance of using older matrices in reproduction, without harming protein and immunological characteristics for their newborns. Despite having specific peculiarities of differences in alpha-lactalbumin production between ages, their whey protein production patterns follow a pattern for cattle.

Keywords: Dairy Gir, characterization, protein, immunoglobulin, physicochemistry.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Hormônios envolvidos no crescimento da glândula mamária e no início da lactação. (A) Estrógenos + hormônio do crescimento + corticosteróides. (B) Estrógenos + progesterona + prolactina + hormônio do crescimento + corticosteróides. (C) Prolactina + corticosteróides. Adaptado de LANDIM-ALVARENGA et al., 2017..... 22
- Figura 2** - Modelo hipotético gráfico do presente experimento, São Paulo, 2021. .... 31
- Figura 3** - Animal devidamente contido para ordenha manual de colostro nas fazendas do Basa. São Paulo, 2021. .... 35
- Figura 4** - Delineamento experimental adotado. São Paulo, 2021. .... 36
- Figura 5** - Gel de eletroforese SDS-PAGE após corrida com soro lácteo, contendo as bandas das proteínas alvo e seus respectivos pesos moleculares. São Paulo, 2021..... 40
- Figura 6** - Sólidos totais (%) no colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas primíparas e pluríparas da raça Gir Leiteiro. a-c letras sobrescritas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os tempos de secreção láctea..... 46
- Figura 7** - pH do colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas jovens, adultas e sênior da raça Gir Leiteiro. A-C letras sobrescritas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ )..... 47
- Figura 8** - Concentração de imunoglobulina G (mg/dL) em fêmeas da raça Gir Leiteiro conforme a paridade (A) e faixa etária (B)..... 50
- Figura 9** - Concentração de imunoglobulina G (mg/dL) no colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas da raça Gir Leiteiro. A-C letras sobrescritas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ). .... 50

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Valores de probabilidade para o efeito principal do grupo (primípara vs. múltipara) e tempo (0h vs. 24h vs. 5d) e sua interação para as variáveis experimentais em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021..... 44
- Tabela 2** - Valores de probabilidade para o efeito principal do grupo (jovem vs. adulto vs. sênior) e tempo (0h vs. 24h vs. 5d) e sua interação para as variáveis experimentais em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021..... 45
- Tabela 3** - Média e erro padrão da densidade láctea e pH do colostro e leite nos grupos Plurípara e Primípara em fêmeas da raça Gir Leiteiro e os respectivos valores de probabilidade (P). São Paulo, 2021. .... 45
- Tabela 4** - Média e erro padrão da densidade láctea e concentração de sólidos totais no colostro e leite nos grupos Jovem, Adulto, Sênior em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 46
- Tabela 5** - Média e erro padrão da densidade láctea e pH do colostro (0 h), leite de transição (24h) e leite (5 dias) em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 47
- Tabela 6** - Média e erro padrão da concentração (%) das distintas proteínas do soro lácteo nos grupos Plurípara e Primípara em fêmeas da raça Gir Leiteiro e os respectivos valores de probabilidade (P). São Paulo, 2021. .... 48
- Tabela 7** - Média e erro padrão da concentração (%) das distintas proteínas do soro lácteo nos grupos Jovem, Adulto, Sênior em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021..... 49
- Tabela 8** - Média e erro padrão da concentração (%) das distintas proteínas do soro lácteo do colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 49
- Tabela 9** - Média e erro padrão das variáveis séricas de bezerros oriundos de fêmeas pluríparas e primíparas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 51
- Tabela 10** - Média e erro padrão das variáveis séricas de bezerros oriundos de fêmeas jovens, adulta e sênior da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 52

**Tabela 11** - Média e erro padrão da concentração de Ig G de cadeia pesada e leve de bezerros oriundos de fêmeas jovens, adultas e sêniores da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 52

**Tabela 12** - Média e erro padrão da concentração de Ig G de cadeia pesada e leve de bezerros oriundos de fêmeas pluríparas e primíparas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021. .... 52



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>21</b>
2.1 Colostrogênese, lactogênese e colostragem.....	21
2.3 Período Neonatal.....	27
2.4 Perspectivas do estudo relativo ao leite de vacas Gir Leiteiro .....	29
<b>3. HIPÓTESE</b> .....	<b>31</b>
3.1 Modelo Hipotético Gráfico .....	31
<b>4. OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>32</b>
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
5.1 Animais e grupos experimentais.....	33
5.2 Delineamento Experimental .....	34
5.3 Avaliações experimentais .....	37
5.3.1 Colostro e leite .....	37
5.3.1.1 Densidade láctea, concentração de sólidos totais e pH do colostro e leite	37
5.3.1.2 Proteína total e frações proteicas do soro lácteo .....	38
5.4 Quantificação de imunoglobulina G.....	40
5.5 Soro sanguíneo dos neonatos.....	41
5.6 Concentração de sólidos totais por refratômetro óptico (Brix).....	41
5.7 Perfil hepático e proteína total .....	41
5.8 Quantificação de imunoglobulina G.....	42
5.9 Análise estatística.....	42
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>44</b>
6.1 Densidade láctea, concentração de sólidos totais e pH do colostro e leite	45
6.2 Proteína total e frações proteicas do soro lácteo .....	48
6.3 Quantificação de imunoglobulina G no colostro e leite .....	50
<b>7 Discussão</b> .....	<b>55</b>
<b>8 Conclusão</b> .....	<b>60</b>
<b>9 Referências</b> .....	<b>61</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019), em 11 anos, a produção de leite cresceu 62% no Brasil, atingindo aumento de 30 bilhões de litros de leite em 2017. Os dados mostram que a produção leiteira passou de 1,6 mil litros de leite por vaca em 2006 para 2,6 mil litros/vaca em 2017, observando-se duplicação na produção por animal. Atribui-se tal incremento ao auxílio do melhoramento genético, tendo em vista o menor número de animais para produzir maior volume de leite (IBGE, 2019). Ademais, o setor da carne cresceu 0,4% em 2019, acompanhado do aumento de commodities agrícolas, levando o Brasil a ocupar o papel de principal exportador de carne do mundo e o segundo maior rebanho bovino, chegando à marca de 214,7 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2019).

Diante de tal cenário, a pecuária nacional vem ganhando força nos últimos anos. Na busca por animais adaptados ao clima tropical e ao manejo com baixa suplementação a pasto, destaca-se o Zebu brasileiro. As espécies zebuínas lideram a busca por genética superior na produção de leite e carne, além das raças de dupla aptidão, principalmente por possuírem excelência quantitativa e qualitativa; maior rendimento de sólidos do leite; carcaça com marmoreio satisfatório e, sobretudo, resistência ao clima e aos endo e ectoparasitas. O fator imprescindível para alta demanda dos zebuínos é a eficiência dos programas de melhoramento genético, com resultados surpreendentes nos últimos anos, ultrapassando a qualidade genética da sua mesma base na Índia (VERNEQUE et al., 2000). Os reflexos já são observados no mercado internacional, com a procura de animais melhorados e funcionais aos trópicos, principalmente por países da América Latina, além dos interesses e importações para a Índia. A raça Gir é originada na península de Kathiawar, na Índia, mais especificamente na floresta de Kathiavar, ao norte do país. Talvez seja a raça zebuína mais antiga do mundo, muito apreciada por seu temperamento e valor genético, principalmente para cruzamentos (SANTOS, 2016).

Apesar do gado zebu ser rústico e possuir características econômicas importantes, suas particularidades relacionadas à parição e, principalmente, cuidados e manejo dos bezerros; composição do colostro e leite; efeitos das categorias relacionadas aos números de partos e a idade dos animais, ainda não são descritas. Ademais, por serem geralmente mantidas em manejo extensivo, a abordagem e assistência ao parto ficam prejudicadas, e observa-se considerável escassez de relatos na literatura com parâmetros de referências, em especial para a raça Gir Leiteiro.

O parto, para qualquer espécie animal, é considerado um momento estressante, diretamente relacionado à instabilidade metabólica, com maior vulnerabilidade a doenças perinatais e neonatais. A brusca mudança do ambiente fetal ao neonatal no momento do nascimento, ou seja, a partir de um ambiente aparentemente estéril para um desafio ambiental microbiológico, representa ameaça iminente ao neonato, especialmente por possuir o sistema imune imaturo. Tal desafio é ainda mais impactante para as espécies animais que não possuem transferência de imunidade passiva pela placenta (ROCHA, 2015). Os ruminantes, em geral, possuem o tipo de placentação sinepiteliocorial, o qual possui maior número de estratos tissulares separando a circulação fetal da circulação materna. Desta forma, a transferência de imunidade passiva materno-fetal é diretamente afetada. Portanto, os neonatos ruminantes nascem hipo ou agamaglobulinêmicos, dependendo diretamente da transferência de imunidade passiva por ingestão do colostro nas primeiras horas de vida, garantindo a sobrevivência no período perinatal (SAWYER, 1977; YANAKA, 2012).

O colostro é responsável por fornecer o mecanismo de defesa imunológico e o aporte de nutrientes essenciais, sendo consideravelmente rico em proteínas, gordura, fatores de crescimento e, especialmente, imunoglobulinas (BRANDON; WATSON; LASCELLES, 1971; PICCIONE, 2010). Diversas pesquisas ressaltam a importância do colostro bovino como detentor de propriedades antimicrobianas significativas, observadas a partir da exposição natural a antígenos de diversos patógenos (HURLEY, 2011). Desta forma, destaca-se ainda mais a importância da adequada colostragem do ponto de vista temporal, evitando falhas de transferência de imunidade passiva por ingestão tardia ou com baixa quantidade de imunoglobulinas colostrais. Entretanto, nas raças zebuínas, estudos sugerem que a maior concentração de imunoglobulinas

no colostro está diretamente relacionada à atividade sexual tardia, pois as novilhas zebuínas são expostas por mais tempo a antígenos ambientais, em comparação às raças bovinas de maior precocidade sexual e maior volume de leite, por exemplo, a raça holandesa. De fato, nas raças taurinas, observa-se aumento na concentração de imunoglobulinas colostrais entre o segundo e terceiro parto (SILPER et al., 2012. FRANKLIN et al., 2005).

Visto a importância primordial e a qualidade indiscutível do colostro bovino para os neonatos, sabe-se que a sua utilização deve ser feita usando critérios mais bem detalhados e seguindo padrões de análises próprias, assegurando sempre a qualidade, quantidade e rapidez no fornecimento para o bezerro. A adequada colostragem visa controlar a contaminação ambiental e auxilia a redução da morbi-mortalidade no período de transição neonatal, sempre associados ao manejo sanitário dos bezerros (WELLS et al., 1996; WINDEYER et al., 2014; RABOISSON et al., 2016). Quando se trata de zebuínos, há escassez de métodos e programas de acompanhamento de parto e pós-parto com assistência neonatal, principalmente na criação de forma extensiva, além das dificuldades de manejo encontradas em muitas propriedades especializadas em gado zebu. Tal aspecto pode interferir diretamente no controle da qualidade do colostro e leite, e impactar a taxa de morbi-mortalidade de bezerros, gerando sensíveis prejuízos econômicos.

A formação do colostro cessa imediatamente no período que antecede o parto, a partir do qual transforma-se em leite, havendo diminuição na concentração de sólidos totais (imunoglobulinas, gordura e proteína) e aumento no teor de lactose (BRANDON; WATSON; LASCELLES, 1971), ou seja, observa-se progressiva diluição do colostro logo após o parto. A constituição proteica do leite bovino corresponde a cerca de 80% de caseínas, classificadas em quatro grupos: alfa S1 (30-46%), alfa S2 (8-11%), beta (25-35%) e kappa (8-15%). Além destas, são encontradas também,  $\alpha$ -lactoalbumina, imunoglobulinas, lactoferrina,  $\beta$ -lactoglobulina, lisozima e albumina (CRITTENDEN & BENNETT, 2005). Embora os elementos formadores e a acurada composição do colostro e leite bovino sejam conhecidas, são informações relativas, em especial, às raças Holandesa e Girolando. Desta maneira, a exata composição do colostro e leite de vacas da raça Gir Leiteiro ainda não é plenamente descrita. Embora o leite oriundo de vacas Zebu tenha grande potencial de indicação ao uso humano,

podendo diminuir algumas doenças metabólicas como diabetes e alergias à proteína do leite (VERCESI FILHO et al, 2012), sua exata caracterização de constituintes ainda não é conhecida.

Diante do exposto, justificam-se estudos mais aprofundados acerca da detalhada composição do colostro e leite de vacas Gir leiteiro, bem como avaliação da influência da paridade (categoria animal) e faixa etária sobre tais parâmetros, visando propor uma referência para a raça e sistema de manejo da colostragem mais eficiente segundo as particularidades (idade e categoria) das vacas leiteiras.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

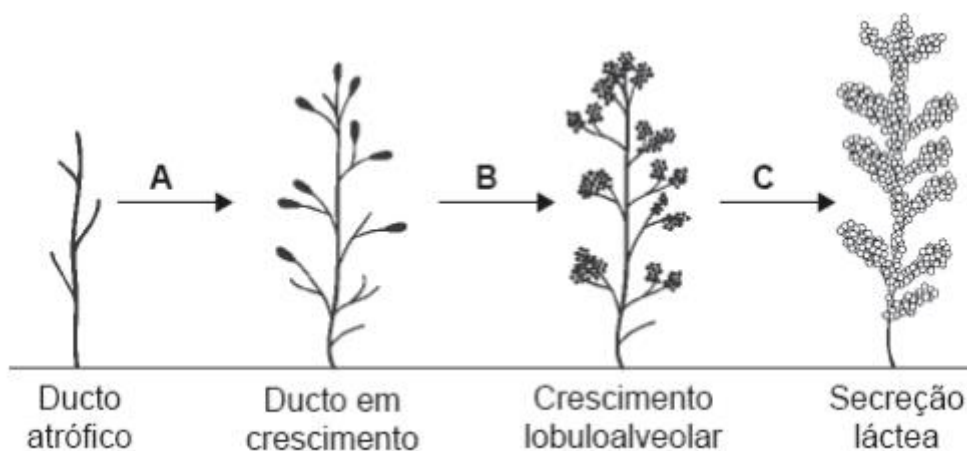
A presente revisão de literatura tem como intuito compilar informações relativas ao desencadeamento fisiológico da colostrogênese e lactação em bovinos, com particularidades para as raças zebuínas.

Nos rebanhos brasileiros da raça Gir Leiteiro, assim como na maioria dos zebuínos, observa-se maior número de vacas matrizes em idade reprodutiva aos 10 a 15 anos. De forma geral, quando o rebanho é constituído por matrizes de maior longevidade, há aspectos lucrativos a serem considerados, pois apresentam prolongada produtividade. Como critérios de seleção para a permanência de tais fêmeas nos rebanhos, a longevidade é considerada uma das principais características (SILVA et al., 2018).

### **2.1 Colostrogênese, lactogênese e colostragem**

A duração média do período de gestação na raça Gir é de  $286,8 \pm 11,4$  dias, superior ao período gestacional de fêmeas taurinas, podendo haver diferença entre primíparas, pluríparas e vacas sênior (AROEIRA, 1980). Nas 3 semanas que antecedem o parto, aproximadamente, há aumento da glândula mamária e edema do úbere (LANDIM-ALVARENGA et al., 2017), os quais podem ser bastante evidentes na raça Gir Leiteiro. Em primíparas, as mudanças da glândula mamária podem ser evidentes já a partir do quarto mês de gestação, apresentando leve aumento e desprendimento das pregas do composto do úbere, que se torna progressivo até o parto. Diversos processos endócrinos no peri-parto são responsáveis pela preparação da glândula mamária para a produção de leite e amamentação, como observado na figura 1 (LANDIM-ALVARENGA et al., 2017). A secreção da glândula mamária sofre alterações em sua composição e modificações na viscosidade, coloração e aparência, observadas imediatamente antes do parto (LANDIM-ALVARENGA et al., 2017). O controle e manutenção da lactogênese está diretamente ligada à inibição da progesterona e estimulação positiva do cortisol e prolactina no momento do parto (LANDIM-ALVARENGA et al., 2017).

**Figura 1** - Hormônios envolvidos no crescimento da glândula mamária e no início da lactação. (A) Estrógenos + hormônio do crescimento + corticosteróides. (B) Estrógenos + progesterona + prolactina + hormônio do crescimento + corticosteróides. (C) Prolactina + corticosteróides. Adaptado de LANDIM-ALVARENGA et al., 2017.



A colostrogênese inicia-se nas últimas semanas de gestação, por transferência de imunoglobulinas e nutrientes do plasma sanguíneo materno e das células da glândula mamária para os ductos mamários (LEVIEUX, OLIER, 1999). Porém, a formação do colostro cessa imediatamente após o parto, a partir do qual transforma-se em leite, havendo diminuição na concentração de imunoglobulina G (Ig G), teores de gordura, proteína, sólidos totais e aumento no teor de lactose (BRANDON; WATSON; LASCELLES, 1971). Após o início da produção de leite, desencadeado pelo processo de parto, o colostro sofre diluições consecutivas e, em 3 a 5 dias, a secreção da glândula mamária passa a ser exclusivamente de leite. A formação do leite de transição pode variar segundo a categoria animal e a frequência de ordenha, ou seja, a partir da sexta ordenha há diminuição das concentrações de gordura e proteína e aumento de lactose na composição do leite (FOLEY & OTTERBY, 1978).

O colostro é responsável por fornecer o mecanismo de defesa imunológico e o aporte de nutrientes essenciais aos neonatos, sendo consideravelmente rico em proteínas, gordura, fatores de crescimento e, especialmente, imunoglobulinas (BRANDON; WATSON; LASCELLES, 1971; PICCIONE, 2010). Diversas pesquisas ressaltam a importância do colostro bovino como detentor de propriedades antimicrobianas significativas, observadas a partir da exposição natural a antígenos de diversos patógenos e auxiliar na prevenção de futuras doenças causadas por vírus, protozoários e

bactérias (HURLEY, 2011). Desta maneira, a colostragem destaca-se como um dos fatores mais importantes na assistência neonatal imediata, por aumentar a sobrevivência dos bezerros nos primeiros dias de vida. Assim, a qualidade e quantidade de colostro ingerido devem ser sempre controlados, visando minimizar falhas de proteção (transferência de imunidade passiva) e possibilidade de contaminação do neonato ao utilizar colostro de baixa qualidade higiênica (HALLERAN et al., 2016). Portanto, para a correta colostragem, a avaliação do colostro é imprescindível, a qual pode ser realizada de forma prática e indireta por meio do lactodensímetro (colostrômetro) e refratômetro óptico (Brix; QUIGLEY, 1998; QUIGLEY et al., 2012. DEELEN, 2014). O colostrômetro mensura a densidade láctea em escalas graduadas, com cores diferentes para designar a qualidade da amostra testada à 25°C, estimando indiretamente a concentração de imunoglobulinas colostrais (QUIGLEY, 1998. QUIGLEY et al., 2012). Já o refratômetro Brix, embora também indique a concentração de sólidos (principalmente imunoglobulinas) no colostro, é de menor custo, portátil, e menos sensível à variação de temperatura da amostra e do ambiente (QUIGLEY et al., 2012; DEELEN, 2014).

Nas raças zebuínas, estudos sugerem que a maior concentração de imunoglobulinas no colostro está diretamente relacionada à atividade sexual tardia, pois as novilhas zebuínas são expostas por mais tempo a antígenos ambientais, em comparação às raças bovinas de maior precocidade sexual e maior volume de leite, por exemplo, a raça holandesa. De fato, nas raças taurinas, observa-se aumento na concentração de imunoglobulinas colostrais entre o segundo e terceiro parto (SILPER et al., 2012. FRANKLIN et al., 2005). A qualidade colostrais em relação à concentração de sólidos ocorre de forma mais prolongada, principalmente nas vacas da raça Guzerá e Gir, possuindo maiores valores de gordura e proteína ao longo da lactação (RIBEIRO et al., 2009, ARAÚJO, 2014). Em trabalhos preliminares de avaliação colostrais em zebuínos, destaca-se a presença satisfatória de componentes essenciais, inclusive a maior presença de imunoglobulinas (SILPER et al., 2012). Quando comparadas as concentrações de Ig G no colostro de vacas holandesas puras e vacas cruzadas com distintos graus de sangue zebuínico, evidencia-se menor concentração de Ig G no colostro de fêmeas com sangue puro ou mais próximo ao Holandês (SOARES FILHO et al., 2001). Desta maneira, a implementação de bancos de



colostro a partir de vacas zebuínas é algo extremamente promissor para fazendas leiteiras em geral, principalmente para neonatos mais debilitados ou de maior carência energética. Por outro lado, para tal finalidade, torna-se fundamental a utilização de ferramentas de controle da qualidade colostrado de vacas zebuínas.

A despeito da ampla importância de utilização prática do colostro de vacas zebuínas, o conhecimento sobre a composição e características do colostro e leite zebu ainda é escasso. Ainda, em sua maioria, os neonatos provenientes de mães zebuínas recebem colostragem diretamente por aleitamento materno, dificultando o controle de sua eficiência e da qualidade colostrado. Tal característica decorre, principalmente, da maior habilidade materna das vacas zebuínas, por haver maior sensibilidade à descida do leite com o estímulo da presença da prole (BARUSELLI et al., 2014; ARAÚJO, 2014).

## 2.2 Composição do colostro e leite bovino

Vários são os conceitos que definem o leite. Em termos fisiológicos, é o produto de secreção das glândulas mamárias, constituído por partículas em suspensão em um fluido viscoso, formando uma emulsão (SGARBIERI, 1996). Os principais constituintes do leite bovino são: água (87,3%), lactose (4,9%), gordura (3,80), proteínas (3,3%) e minerais (0,72%) (SGARBIERI, 2004).

O soro lácteo é a parte aquosa do leite, formado por diversas proteínas de importante valor biológico, sendo elas:  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG),  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -LA), lactoferrina, albumina do soro bovino (BSA), imunoglobulinas (Ig's) e glicomacropéptidos. Tais proteínas são, em sua maioria, globulares, de tamanhos variados, com distintos pesos moleculares e atividades, embora nem todas as funções biológicas sejam conhecidas (KINSELLA, 1989; AIMUTIS, 2004; RAIMONDO, 2011). Estima-se que as proteínas do soro lácteo representam cerca de 20% da concentração proteica total, a despeito de variações raciais, nutricionais e da condição geográfica (SALZANO, 2002). As proteínas do leite, em especial as encontradas no soro lácteo, possuem propriedades únicas, além de grande importância e valor biológico.

A  **$\beta$ -lactoglobulina** é considerada a principal proteína do soro lácteo secretada por ruminantes (SAWER, 2003), correspondendo a cerca de 50% da

concentração proteica total do soro lácteo e cerca de 10 a 12% do total de proteínas no leite bovino (FOX & MC SWEENEY, 1998; SAWYER, 2003). Acredita-se que a  $\beta$ -lactoglobulina exerça papel no metabolismo de fósforo da glândula mamaria, além de realizar o transporte de vitamina A e algumas moléculas hidrofóbicas no sistema digestivo dos neonatos (SAWEYER, 2003; SAKANTOPIDIS et al., 2004). A estrutura primária da  $\beta$ -lactoglobulina possui 162 resíduos de aminoácidos e peso molecular entre 18,27 e 18,4 kDa (FARRELL et al., 2004), sendo sequenciada pela primeira vez por Braunitzer et al. (1972) e, completamente genotipada por Alexandre et al. (1993). Estudos ressaltam que há variações genótípicas para a produção da  $\beta$ -lactoglobulina em animais leiteiros, traduzidas como diferenças na cadeia de aminoácidos como variantes A, B e C (FORMAGGIONI et al., 1999).

A  **$\alpha$ -lactoalbumina** é considerada a segunda proteína em maior abundância no soro lácteo bovino, correspondendo a 15%-25% do total de proteínas (SHANNON et al., 2003). Possui peso molecular de 14,2 kDa (BREW, 2003), além de ser uma proteína de fácil e rápida digestão por possuir característica ligante a certos minerais, principalmente, o cálcio e zinco (HARAGUCHI et al., 2006). Em sua composição, possui a maior quantidade (6%) de aminoácidos (HARAGUCHI et al., 2006), entre eles a lisina, leucina, treonina e cistina. A  $\alpha$ -lactoalbumina foi descoberta há mais de 60 anos, com papel importante nos estudos das propriedades físico-químicas e, atualmente, como modelo de estudos (MARKUS et al., 2002). Com papel biológico importante na produção láctea, a  $\alpha$ -lactoalbumina possui sua produção regulada pela prolactina (LARSON, 1979) e uma função precursora na biossíntese da lactose no parênquima da glândula mamaria. Juntamente com a  $\beta$ 1,4-galactosiltransferase, um composto no aparelho de Golgi das células epiteliais da glândula mamaria, denominado lactose-sintetase, é responsável pela regulação da síntese de lactose (FARRELL et al., 2004; BLECK et al., 2009). Tal fenômeno biológico proporciona influxo de água para o interior do complexo de Golgi, exercendo importante papel na regulação osmótica e um dos principais fatores para a formação da parte aquosa do leite. Sendo assim, as variações genótípicas para a produção de  $\alpha$ -lactoalbumina podem indicar o potencial genético para o volume da produção de leite (BREW, 2003).

A **lactoferrina** é uma glicoproteína multifuncional carreadora de ferro, identificada em 1939. Possui relação com a transferrina plasmática, porém com maior afinidade ao ferro. Trata-se de uma proteína de cadeia única com aproximadamente 80 kDa (LÖNNERDAL, 2003), formada por uma sequência de 708 aminoácidos em sua cadeia proteica (FARRELL et al., 2004). Produzida na glândula mamaria pelas células epiteliais e por outras glândulas exócrinas, observa-se a presença de lactoferrina na saliva, lágrima, suor e sêmen, porém com maior concentração no colostro (GEORGIEV, 2008). Além de ação antimicrobiana de amplo espectro, a lactoferrina pode atuar na mediação da resposta imune (ARTYM & ZIMECKI, 2005). Os neutrófilos desempenham papel importante na derivação da lactoferrina plasmática, principalmente advinda da liberação de grânulos secundários em processos inflamatórios. De fato, no leite proveniente de animais com mastite, a concentração de lactoferrina geralmente aumenta, por maior presença de leucócitos com grânulos secretores de lactoferrina, desempenhando papel protetor da glândula mamaria (KORHONEN; MARNILA, 2003). De acordo com Tsuji et al. (1990), a concentração de lactoferrina no leite pode variar segundo a categoria de paridade das vacas (primíparas ou pluríparas).

A **albumina** é uma das proteínas que compõe o soro lácteo, sendo a principal e mais abundante proteína sérica. Com peso molecular de 66 kDa, a albumina corresponde a cerca de 1,5% do total de proteínas no leite, com 583 resíduos de aminoácidos. Sintetizada pelo fígado, sua concentração no leite reflete diretamente a concentração sanguínea, além de estar presente em outros tecidos e secreções. Entre suas principais funções destaca-se o transporte, metabolismo e distribuição de substâncias consideradas ligantes, como hormônios, íons, ácidos graxos e a bilirrubina, além de ação antioxidante, manutenção do pH sanguíneo e osmolaridade (FARRELL et al., 2004). É uma proteína envolvida em processos infecciosos, principalmente em distúrbios de permeabilidade de membrana celular (FARRELL et al., 2004).

As **imunoglobulinas** são proteínas de alto peso molecular no leite bovino, variando de 150 a 1000 kDa. São comumente encontradas em 4 classes distintas: Ig G, Ig A, Ig M e Ig E. A principal classe encontrada, correspondendo a 80 a 90%, é a Ig G, sendo sua principal subclasse a Ig G1, correspondente a cerca de 80% do total de imunoglobulinas (HURLEY, 2003). Em termos

estruturais, as imunoglobulinas possuem semelhanças, sendo geralmente compostas por duas cadeias idênticas, caracterizadas como duas cadeias leves (com peso molecular em torno de 23 kDa) e duas cadeias pesadas (com peso molecular em torno de 53 kDa), as quais somadas, determinam 160 kDa de peso molecular. As ligações entre as duas porções leve e pesadas são feitas por pontes dissulfeto, formando uma estrutura semelhante a um “Y” (HURLEY, 2003). As imunoglobulinas, diferentemente das demais proteínas lácteas, são transportadas da corrente sanguínea materna para a glândula mamária para compor o colostro e o leite (MARNILA; KORHONEN, 2003).

A despeito da baixa produção de leite em relação às vacas de origem européia, as vacas zebuínas apresentam maiores teores de gordura e lactose no leite (BARUSELLI et al., 2014). De fato, de acordo com Ribeiro et al. (2009), o leite de vacas zebuínas (*Bos indicus*) apresenta maiores teores de gordura, principalmente em vacas pluríparas das raças produtoras de leite, tais como o Guzerá e Gir. Para a raça Sindi, a composição de proteína e gordura do leite assemelha-se às búfalas (HÜHN et al., 1982), ressaltando importante diferença de componentes benéficos no leite em relação ao gado europeu. Porém, ainda há escassez de trabalhos científicos com o objetivo precípuo de descrever acuradamente a composição do colostro e leite de vacas zebuínas produtoras de leite.

### **2.3 Período Neonatal**

No Brasil, o acompanhamento pré-parto e pós-parto das matrizes, a assistência neonatal imediata e os cuidados com os bezerros nos primeiros meses de vida são geralmente negligenciados nas propriedades rurais, em especial as de manejo a pasto. Os rebanhos de corte criados de forma extensiva apresentam dificuldades para a implementação dos protocolos de acompanhamento perinatal. Por outro lado, nos rebanhos leiteiros que utilizam a genética zebuína, tais protocolos podem ser mais facilmente implantados.

Os cuidados perinatais devem iniciar-se no manejo sanitário e vacinal das vacas prenhes, minimizando perdas da fase gestacional. Em geral, as matrizes e as doadoras de embriões devem ser submetidas ao exame ginecológico

minucioso, tornando-se possível o controle sanitário mais rígido por exames laboratoriais, na tentativa de gerar dados e informações que auxiliam na identificação, prevalência e morbidade de doenças, tais como a Brucelose, Leptospirose, Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e Diarréia Viral Bovina (BVD) (COSTA, 2006).

Durante a fase gestacional, o órgão responsável pelo transporte de nutrientes, suprimento de glicose e oxigênio fetal é a placenta. Ademais, são transportados para o feto aminoácidos, vitaminas hidrossolúveis e hormônios esteroides, como as primeiras fontes de energia e nutrientes necessários para o desenvolvimento fetal (ROCHA, 2015). Por outro lado, o parto é considerado momento estressante, diretamente relacionado à instabilidade metabólica, com maior vulnerabilidade a doenças perinatais e neonatais. O nascimento requer adaptação neonatal rápida das vias respiratórias e trocas gasosas, via circulatória, controle da homeostase, e procura por alimento (KURZ, 1991; PICCIONE, 2010; COSTA, 2006). Desta maneira, o acompanhamento do parto e a eventual assistência neonatal imediata poderão reduzir a chance de morbimortalidade neonatal. A avaliação da vitalidade neonatal, por meio de parâmetros vitais básicos pode direcionar a conduta correta nos casos de hipoxemia prolongada, hipotermia, bradicardia e cianose (VANNUCCHI, 2012). A maior susceptibilidade neonatal às doenças pode impingir diretamente os sistemas de produção, ocasionando redução da produtividade e prejuízos econômicos (KELLER, 1998; DWYER, 2008).

A brusca mudança do ambiente fetal ao neonatal no momento do nascimento, ou seja, a partir do ambiente aparentemente estéril para o desafio ambiental microbiológico, representa ameaça ao neonato, especialmente por possuir o sistema imune imaturo. Tal desafio é ainda mais impactante para as espécies animais que não possuem transferência de imunidade passiva pela placenta (ROCHA, 2015). Os ruminantes, em geral, possuem o tipo de placentação sinepiteliocorial, o qual possui maior número de estratos tissulares separando a circulação fetal da circulação materna. Desta maneira, a transferência de imunidade passiva materno-fetal é diretamente afetada. Os neonatos ruminantes nascem hipo ou agamaglobulinêmicos, dependendo diretamente da transferência de imunidade passiva colostrar nas primeiras horas de vida para garantir a sobrevivência no período perinatal (SAWYER, 1977;

YANAKA, 2012). O colostro é responsável por fornecer o mecanismo de defesa imunológico e também o aporte de nutrientes essenciais para os neonatos, consideravelmente rico em proteínas, gordura, fatores de crescimento e, especialmente, imunoglobulinas (BRANDON; WATSON; LASCELLES, 1971; PICCIONE, 2010). Entretanto, o fornecimento do colostro de qualidade e em quantidade adequada deve ser realizado o mais rápido possível, pois o período de melhor absorção de imunoglobulinas pelos enterócitos ocorre entre 4 a 6 horas após o nascimento (BESSER et al., 1985; MICHANEK et al., 1989). Desta forma, a colostragem deve ser realizada preferencialmente em até 12 horas após o parto.

#### **2.4 Perspectivas do estudo relativo ao leite de vacas Gir Leiteiro**

Diante das distintas informações científicas arroladas nesta revisão de literatura, cabem algumas considerações, com o intuito de reforçar o potencial científico para o estudo da raça Gir Leiteiro.

Atualmente, com a crescente demanda e apelo comercial para o consumo de leite com composição de beta-caseína A2A2, a raça Gir destaca-se como promissora fonte de tal característica. Desta maneira, estudos detalhados acerca dos padrões de composição do leite de fêmeas zebuínas Gir são fundamentais. Embora o leite oriundo de vacas da raça Gir seja de grande potencial para o consumo humano, sua exata composição ainda não é plenamente conhecida, em especial as características imunológicas do colostro. Ao serem comparadas as concentrações de Ig G no colostro de vacas taurinas e zebuínas, verifica-se composição imunológica superior nas fêmeas zebuínas. Portanto, trabalhos científicos devem ser conduzidos com o objetivo de associar as características imunológicas do colostro de vacas da raça Gir com a eficiência da colostragem nos respectivos bezerros, além do melhor entendimento da fisiologia da colostrogênese e lactogênese nos zebuínos.

Estudos sugerem que a baixa produtividade de leite, associada à atividade sexual tardia das vacas de raças zebuínas, pode influenciar diretamente a composição de imunoglobulinas no colostro. O maior período de exposição das novilhas zebuínas a antígenos ambientais, em comparação às raças de maior precocidade sexual e maior volume de leite, como a raça

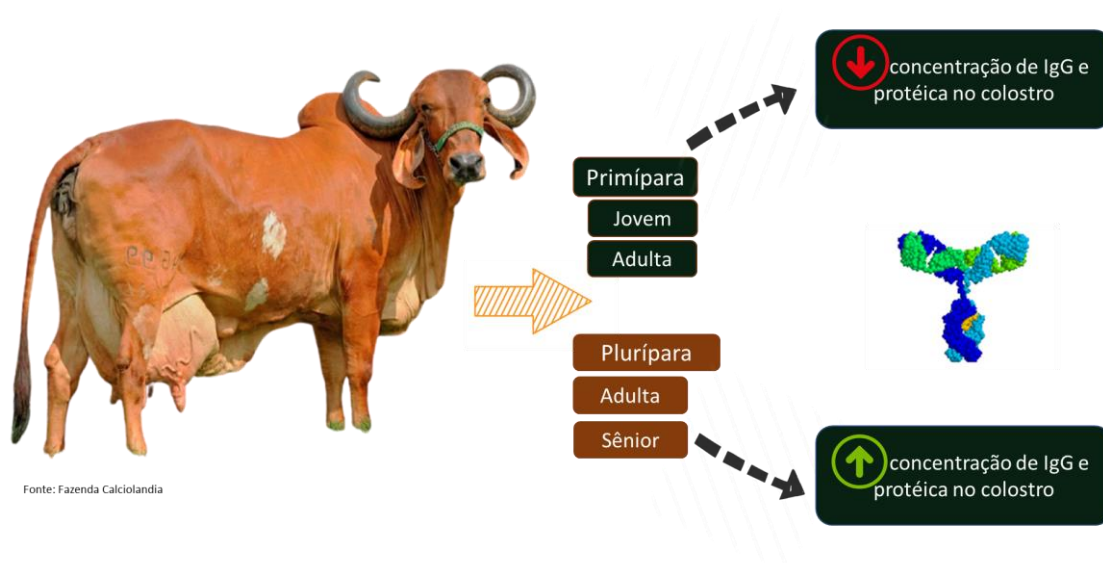
holandesa, podem garantir melhor aporte imunológico ao colostro. De fato, nas vacas taurinas, a concentração de imunoglobulinas no colostro atinge seu maior valor apenas entre o segundo e terceiro parto (SILPER et al., 2012. FRANKLIN et al., 2005). Entretanto, os processos de colostrogênese e lactogênese, influenciados pela categoria / paridade e faixa etária das fêmeas zebuínas precisa ser melhor compreendida e descrita.

### 3. HIPÓTESE

A composição do colostro e leite sofre influência da categoria, paridade e faixa etária nas fêmeas da raça Gir Leiteiro.

#### 3.1 Modelo Hipotético Gráfico

**Figura 2** - Modelo hipotético gráfico do presente experimento, São Paulo, 2021.





#### **4. OBJETIVO GERAL**

Avaliar e comparar a composição do colostro e leite de fêmeas bovinas da raça Gir segundo a categoria animal (paridade) e faixa etária.

##### **4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar alguns aspectos da composição físico-química do leite e colostro de fêmeas da raça Gir Leiteiro.
- Comparar a composição proteica do soro lácteo e as concentrações de imunoglobulina G no colostro e leite de fêmeas primíparas e pluríparas da raça Gir leiteiro.
- Comparar a composição proteica do soro lácteo e as concentrações de imunoglobulina G no colostro e leite de fêmeas jovens, adultas e sêniores da raça Gir leiteiro.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

As condições de utilização dos animais neste experimento estão em consonância com a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (protocolo CEUA N° 6462230418).

### 5.1 Animais e grupos experimentais

O experimento foi realizado utilizando rebanho Gir Leiteiro das Fazendas do BASA, localizada na Zona da Mata Mineira, no Município de Leopoldina, Minas Gerais, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 21°25'48.9"S, Longitude: 42°37'23.8"W. O estudo foi conduzido por 2 meses, durante o período de dezembro de 2019 a janeiro de 2020. Trata-se de uma propriedade com rebanho controlado sanitária e nutricionalmente, evitando-se afecções de origem metabólicas e epidemias enzoóticas. Os animais estavam preferencialmente sob a mesma condição ambiental e de manejo.

O manejo alimentar era baseado em silagem de milho, pasto formado em sua totalidade por *Brachiaria* spp., com complementação de sal mineral de formulação específica para o pré-parto. O consumo de água era *ad libitum*.

O protocolo experimental correspondeu à utilização de 28 vacas, exclusivamente Gir leiteiro, clinicamente sadias, sem histórico de alterações reprodutivas (ciclicidade) e anatômicas. As fêmeas possuíam entre 24 a 137 meses, com escore de condição corporal entre 3 e 4. Como fatores de exclusão, considerou-se: distocia, natimortalidade, gemelaridade, mastite ou alteração na coloração, odor e viscosidade do colostro e leite no pós-parto.

Para formação dos grupos experimentais, considerou-se a categoria animal / número de partos (paridade) e a faixa etária das fêmeas:

- **Vacas Prímiparas** (n = 12): fêmeas Gir Leiteiro em primeiro parto;
- **Vacas Pluríparas** (n = 16): fêmeas Gir Leiteiro com mais de 1 parto;
- **Jovem** (n = 6): fêmeas Gir Leiteiro com idade média entre 24 a 36 meses, de acordo com orientações do Regulamento ABCZ (2018);

- **Adulta** (n = 15): fêmeas Gir Leiteiro com idade média entre 37 a 91 meses, de acordo com orientações do Regulamento ABCZ (2018);

- **Sênior** (n = 7): fêmeas Gir Leiteiro com idade média entre 96 a 137 meses, de acordo com orientações do Regulamento ABCZ (2018).

Os bezerros também foram alocados em dois grupos experimentais, conforme a paridade e faixa etária de suas respectivas mães:

- **Neonatos origem Primíparas:** (n = 7): neonatos Gir Leiteiro provenientes de mães de primeira cria;

- **Neonatos origem Pluríparas:** (n= 10): neonatos Gir Leiteiro provenientes de mães com mais de 1 parto.

- **Neonatos origem Jovem** (n = 5): neonatos Gir Leiteiro provenientes de mães com idade média entre 24 a 36 meses;

- **Neonatos origem Adulta** (n = 8): neonatos Gir Leiteiro provenientes de mães com idade média entre 37 a 91 meses;

- **Neonatos origem Sênior** (n = 4): neonatos Gir Leiteiro provenientes de mães com idade média entre 96 a 137 meses.

Para obtenção do número ideal de animais em cada grupo experimental para relevância estatística, a análise do poder de teste foi realizada pelo aplicativo SAS Power and Sample Size 12 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), utilizando valores de médias e erros padrão de resultados previamente obtidos em experimento piloto. Foram selecionadas algumas variáveis experimentais (densidade láctea, concentração de lactoferrina e albumina no soro lácteo), demonstrando poder de teste de 0,99. Considerando-se poder estatístico aceitável superior a 0,80, o número de animais utilizado no presente experimento assegura o valor-científico dos achados.

## 5.2 Delineamento Experimental

As fêmeas foram observadas a partir de aproximadamente 280 dias após a data da última inseminação artificial ou monta natural, avaliando-se diariamente os sintomas de pródomos do parto (aumento do volume do úbere com

edemaciação local e vermelhidão, edemaciação vulvar e frouxidão dos ligamentos pélvicos, assim como inquietação e isolamento). Apenas fêmeas em eutocia foram utilizadas, sendo o parto assistido desde sua fase prodrômica até a expulsão completa dos envoltórios fetais.

Após o parto, respeitando-se o manejo adotado pela fazenda, era procedido limpeza e desinfecção dos tetos das vacas e novilhas com uso de água e hipoclorito, e secagem com papéis descartáveis (figura 4). A ordenha do colostro foi realizada manualmente em recipiente limpo e adequado, denominada 1ª ordenha (0 horas). Após 24 horas (3ª ordenha), procedeu-se a colheita do leite de transição e, após 5 dias (10ª ordenha), realizou-se a colheita do leite obedecendo os mesmos procedimentos de manejo (figura 3). As amostras de colostro e leite foram aliqüotadas em tubos com capacidade para 15 e 50 mL e mantidas a -20° C até o processamento.

**Figura 3** - Animal devidamente contido para ordenha manual de colostro nas fazendas do Basa. São Paulo, 2021.



O fornecimento do colostro aos respectivos bezerros (colostragem) foi calculado considerando-se o volume de 10% de seu peso vivo, por meio de mamadeira, em até 8 horas após o nascimento, com tempo médio variando de 4 a 6 horas. Os bezerros permaneceram em bezerreiro comunitário até aproximadamente 5 dias de vida, com cama de pó de serra, ao abrigo do vento e chuva. O manejo dos bezerros recém-nascidos era realizado duas vezes ao dia.

Para análise da eficiência da transferência de imunidade passiva aos neonatos, aos 3 dias de vida, foram obtidas amostras de sangue dos bezerros por venopunção jugular com auxílio de Vacutainer®, após assepsia com álcool etílico a 70% (figura 3). Para obtenção do soro sanguíneo, as amostras de sangue foram depositadas em tubos sem anticoagulante, centrifugadas a 14000 g por 10 min e posteriormente aliqüotado em tubos com capacidade de 1 mL e armazenados a -20°C até o processamento.

**Figura 4** - Delineamento experimental adotado. São Paulo, 2021.



## **5.3 Avaliações experimentais**

### **5.3.1 Colostro e leite**

#### **5.3.1.1 Densidade láctea, concentração de sólidos totais e pH do colostro e leite**

Logo após a ordenha, as amostras eram avaliadas quanto ao aspecto, viscosidade, odor e coloração. Se adequadas, amostras de 250 mL de colostro foram submetidas à análise da densidade láctea por meio do colostrômetro (lactodensímetro). O colostro foi mantido entre 20 e 25°C para não haver interferência da temperatura e avaliou-se, a partir da densidade do colostro, a quantidade de imunoglobulinas e a qualidade do colostro pela cor indicada no lactodensímetro. Para tanto, as amostras foram depositadas em proveta e, então, adicionado o densímetro e observadas as cores vermelha, amarela ou verde presentes na escala (QUIGLEY, 1998). Considerou-se os seguintes parâmetros de comparação (QUIGLEY, 1998):

- Coloração verde: resultado da graduação entre 50 e 140 mg de imunoglobulinas/mL, considerado de alta qualidade;
- Coloração Amarela: graduação de 20 a 50 mg de imunoglobulinas/mL, considerado de qualidade média a moderada.
- Coloração Vermelha: graduação inferior a 20 mg de imunoglobulinas/mL, considerado de baixa qualidade.

Para a mensuração da concentração de sólidos totais, utilizou-se o refratômetro óptico Brix, com escala de 0 – 32%. Inicialmente, foi feita a calibração do aparelho com 25 µL de água destilada sob o prisma óptico do refratômetro Brix. Sequencialmente, foram depositados 25 µL de colostro, avaliando-se a porcentagem a partir da numeração oferecida pelo aparelho. Como valor de referência para o colostro bovino, considerou-se como colostro de alta qualidade quando observado a porcentagem de sólidos totais acima de 21%, a qual indica >50 g de imunoglobulinas/L de colostro (QUIGLEY et al., 2013).

Para análise do pH das amostras do colostro, leite de transição e leite, os tubos de armazenamento a  $-20^{\circ}\text{C}$  foram descongelados em temperatura ambiente. O pH foi mensurado por imersão das amostras no leitor do pHmetro digital modelo Sartorius PB-11-P11.1 Basic com eletrodo Sartorius PY-P11-2S (BIRGEL JUNIOR, 2006).

### **5.3.1.2 Proteína total e frações proteicas do soro lácteo**

Para obtenção do soro lácteo, as amostras de leite e colostro foram submetidas à coagulação por adição de  $100\ \mu\text{L}$  de quimosina (coagulante) em  $5\ \text{mL}$  das amostras, respeitando a proporção fornecida pelo fabricante ( $7\ \text{mL}$  de coagulante para cada  $10\ \text{L}$  de leite). As amostras foram mantidas em banho-maria a  $37^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos e submetidas à centrifugação por 20 minutos a  $16000\ \text{xg}$ . O soro lácteo assim obtido foi armazenado em microtubos com capacidade de  $1\ \text{mL}$  a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o processamento (SILPER et al., 2012; QUIGLEY et al., 2012; DEELEN, 2014).

A concentração de proteína total do soro lácteo foi determinada pelo método de Biureto. Após a descongelação do soro lácteo em temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas (centrifuga de microtubos Biofuge Pico da Heraeus Instruments) a  $16000\ \text{xg}$  por 20 minutos, para eliminar o máximo de turbidez da amostra, evitando interferências indiretas na absorbância. As amostras foram analisadas por reação colorimétrica do reativo Biureto ( $3\ \text{mL}$ ) com a proteína contida em  $50\ \mu\text{L}$  de soro lácteo. Os resultados foram obtidos a partir da leitura de absorbância em espectrofotômetro em  $555\ \text{nm}$  de comprimento de onda. Amostras que apresentavam eventuais valores imensuráveis de proteína total foram adicionalmente diluídas em água MiliQ (RAIMONDO, 2011).

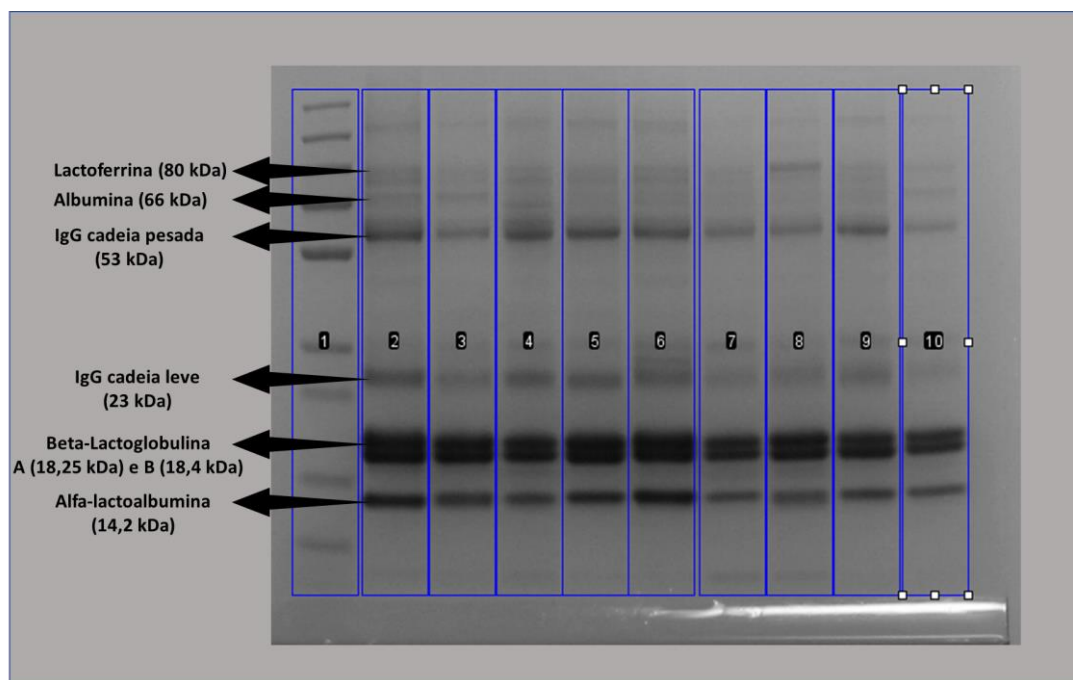
Para a análise das frações proteicas do soro lácteo, foi adotada a técnica de eletroforese em matriz de gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE; gel de gradiente Bolt™ 4 a 12%, Bis-Tris,  $1,0\ \text{mm}$ , Mini Protein Gel, Thermo Fisher), com base na técnica descrita por LAEMMLI (1970) modificada, utilizando-se sistema vertical de eletroforese em gel Bis-Tris e Tampão SDS

MES. As amostras foram preparadas em diluição de 1:6, utilizando 10 µL da amostra em 40 µL de tampão-fosfato (PBS) e 10 µL de tampão de amostra para proteínas desnaturadas - gel mix. A mistura foi homogeneizada em aparelho Vórtex e desnaturada sobre água em ebulição por 10 minutos, na presença do 2-mercaptoetanol e do detergente Lauril sulfato de sódio (Gel Mix), de acordo Raimondo (2011) adaptado. Para o volume de aplicação da solução de amostra diluída e preparada nos poços do gel, foi utilizado um cálculo de padronização da concentração proteica de cada amostra, baseada no valor de proteína total, sendo o valor em µL =  $30 \div [(Proteína\ Total\ do\ soro\ lácteo \times 10) \div 6]$  (RAIMONDO, 2011). A placa do gel específica foi alocada em cuba Mini Gel Tank- Invitrogen®, em contato com solução tampão 1X Bolt™ MES SDS Running Buffer, adicionado aos primeiros poços o padrão de peso molecular comercial (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, 10 to 250 kDa) e, posteriormente as amostras devidamente identificadas. O sistema foi submetido à corrente elétrica inicial de 180 v por 10 minutos, e em seguida 200 v até o fim da corrida. Terminada a separação, o gel sofreu o processo de coloração por 10 minutos em solução de azul de comassie 0,2% em agitador horizontal, e em seguida, retirado o excesso de corante com solução descorante (*overnight*), até a completa nitidez das bandas (figura 5) (RAIOMONDO, 2011).

A análise do gel foi realizada com auxílio do MultiDoc-It Digital Imaging System UVP para captura das imagens do gel em definição nítida, o qual revelou as distintas bandas proteicas de diferentes pesos moleculares, a saber: lactoferrina (80 kDa), albumina (66 kDa), imunoglobulina G de cadeia pesada (53 kDa), imunoglobulina de cadeia leve (23 kDa), β-lactoglobulina A (18,25 kDa) e B (18,4 kDa) e α-lactoalbumina (14,2 kDa) (figura 5). Para mensuração da concentração das proteínas alvo, foi utilizado o Software Image J (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland). O cálculo da concentração de cada proteína no soro lácteo foi realizado considerando-se a porcentagem relativa à proteína de maior e menor concentração absoluta contida na amostra de soro lácteo.



**Figura 5** - Gel de eletroforese SDS-PAGE após corrida com soro lácteo, contendo as bandas das proteínas alvo e seus respectivos pesos moleculares. São Paulo, 2021.



#### 5.4 Quantificação de imunoglobulina G

As amostras de colostro, leite de transição e leite foram inicialmente centrifugadas por 30 minutos a 18.000 g para separação do soro lácteo da fração de gordura e do *pellet* de caseína (REBER et al., 2008).

A quantificação de Ig G foi realizada por imunofluorescência *sandwich* ELISA, utilizando anticorpo Ig G de coelho anti-bovino (anticorpo de captura, B5645; Sigma, St. Louis, MO), diluído na proporção 1:400 em tampão de carbonato de sódio. Para revestir as placas foi utilizado Immulon 4HBX (Thermo Corp., Milford, MA) de 4 - 8 ° C, *overnight*. Na sequência, as placas foram lavadas 3 vezes usando tampão de lavagem. Para o presente ensaio, utilizou-se amostras de soro lácteo diluídas em 1:1.000.000 e 1:10.000.000. As amostras foram depositadas em poços duplicados e incubadas por 1 hora a 20 – 26 °C. Após a incubação, as placas foram lavadas 3 vezes. A Ig G ligada ou conjugada foi detectada usando Ig G de coelho anti-bovino conjugado com *horseradish* peroxidase (anticorpo de detecção, A5295; Sigma, St. Louis, MO), sendo o mesmo diluído 1:1000, posteriormente incubado durante 30 minutos (REBER et al., 2008). Após este processo, as placas foram novamente lavadas por 3 vezes.

A concentração de anticorpo de detecção ligado foi medida usando o substrato 2,20 - azino-bis (ácido 3-etilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS, A-9941; Sigma, St. Louis, MO), contendo 20 µL de peróxido de hidrogênio a 30% em 11 mL ABTS (pré-condicionado à temperatura ambiente por 15 minutos) e, posteriormente, incubado por 30 minutos. A leitura do sinal de cor foi realizada por leitor de placas com filtro de 405 nm, utilizando uma curva padrão de imunoglobulina com diluição seriada de gamaglobulina bovina em intervalo de 50 a 0,39 ng/mL (I5506; Sigma, St. Louis, MO) (REBER et al., 2008).

### **5.5 Soro sanguíneo dos neonatos**

#### **5.6 Concentração de sólidos totais por refratômetro óptico (Brix)**

Amostras de 50 µL de soro sanguíneo foram depositadas sobre o prisma óptico do refratômetro Brix e o valor obtido, em escala gradual, foi representado em g/dL de sólidos totais (DEELEN et al., 2014). Considerou-se como efetiva transferência de imunidade passiva resultados superiores a 5,5 g/dL, enquanto valores entre 5,0 – 5,4 g/dL representaram transferência de imunidade passiva moderada. A falha na transferência de imunidade passiva foi considerada quando os resultados eram inferiores a 5,0 g/dL (QUIGLEY et al., 2013; DEELEN et al., 2014).

#### **5.7 Perfil hepático e proteína total**

O perfil hepático sanguíneo foi determinado por kit comercial da marca BioSystems, utilizando-se o analisador bioquímico automático da marca Labtest, o qual forneceu a concentração de proteína total, gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), albumina, bilirrubina direta e indireta.

## **5.8 Quantificação de imunoglobulina G**

Para a análise das frações de Ig G de cadeia leve e pesada do soro sanguíneo dos bezerros, foi adotada a técnica de eletroforese em matriz de gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme anteriormente descrita.

Ademais, foi determinada a concentração total de Ig G no soro sanguíneo dos bezerros por imunofluorescência ELISA, seguindo protocolo previamente descrito para o soro lácteo. Ressalta-se, entretanto, que as amostras neonatais de soro sanguíneo foram diluídas em 1:1.000.000 para o devido processamento.

## **5.9 Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados através do programa SAS System for Windows 9.3 (SAS, 2000). Através do aplicativo Guided Data Analysis, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (distribuição normal) e homogeneidade das variâncias. Nos casos de não obtenção destas premissas, os dados foram transformados (log 10 para as variáveis GGT, albumina, IgG de cadeia leve e pH e raiz quadrada para as variáveis IgG de cadeia pesada e lactoferrina). Quando a normalidade não foi obtida, empregou-se o procedimento NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica.

Os efeitos dos grupos experimentais (paridade e faixa etária), dos momentos de avaliação (0h, 24h e 5 dias) e da interação entre grupos e momentos foram analisados através do PROC MIXED de medidas repetidas no tempo, considerando  $P < 0,01$  na análise de interação. Posteriormente, foram utilizados os testes LSD e Wilcoxon para variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente. As diferenças entre os grupos de paridade (primípara X plurípara) foram analisadas utilizando o teste t de Student (variáveis paramétricas) e o teste de Wilcoxon (variáveis não paramétricas). O teste LSD foi utilizado para comparar as diferenças ao longo do tempo e entre os grupos de faixa etária (jovem X adulta X sênior).

As correlações de Pearson e Spearman foram utilizadas para verificar a relação entre as variáveis respostas de dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente. O nível de significância foi de 5%.

## 6 RESULTADOS

Foi observada interação significativa ( $P < 0,1$ ) entre os grupos experimentais relativos à paridade (primípara vs. plurípara) e os momentos de avaliação (0h vs 24h vs 5 dias) apenas para a concentração de sólidos totais no colostro e leite (tabela 1).

**Tabela 1** - Valores de probabilidade para o efeito principal do grupo (primípara vs. multipara) e tempo (0h vs. 24h vs. 5d) e sua interação para as variáveis experimentais em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Grupo</b>	<b>Tempo</b>	<b>Grupo x Tempo</b>
<b>Concentração de Ig G</b>	0,32	<0,0001	0,85
<b>Densidade láctea</b>	0,04	<0,0001	0,14
<b>Concentração de sólidos totais</b>	<b>0,18</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,06</b>
<b>Concentração de lactoferrina</b>	0,76	<0,0001	0,66
<b>Concentração de albumina</b>	0,07	<0,0001	0,70
<b>Concentração de IgG cadeia pesada</b>	0,14	<0,0001	0,53
<b>Concentração de IgG cadeia leve</b>	0,26	<0,0001	0,88
<b>Concentração de <math>\beta</math> lactoglobulina</b>	0,07	0,09	0,87
<b>Concentração de <math>\alpha</math> lactoalbumina</b>	0,04	0,005	0,17
<b>pH</b>	0,59	0,57	0,33

Não houve interação ( $P > 0,1$ ) entre o efeito principal dos grupos relativos à faixa etária (jovem vs. adulto vs. sênior) e os momentos de avaliação (0h vs 24h vs 5 dias) para as distintas variáveis experimentais, à exceção do pH do colostro e leite (tabela 2).

**Tabela 2** - Valores de probabilidade para o efeito principal do grupo (jovem vs. adulto vs. sênior) e tempo (0h vs. 24h vs. 5d) e sua interação para as variáveis experimentais em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Grupo</b>	<b>Tempo</b>	<b>Grupo x Tempo</b>
<b>Concentração de Ig G</b>	0,45	<0,0001	0,86
<b>Densidade láctea</b>	0,06	<0,0001	0,22
<b>Concentração de sólidos totais</b>	0,26	<0,0001	0,16
<b>Concentração de lactoferrina</b>	0,68	<0,0001	0,25
<b>Concentração de albumina</b>	0,07	0,0003	0,95
<b>Concentração de IgG cadeia pesada</b>	0,24	<0,0001	0,47
<b>Concentração de IgG cadeia leve</b>	0,25	<0,0001	0,70
<b>Concentração de <math>\beta</math> lactoglobulina</b>	0,18	0,17	0,90
<b>Concentração de <math>\alpha</math> lactoalbumina</b>	0,25	0,009	0,99
<b>pH</b>	<b>0,79</b>	<b>0,59</b>	<b>0,07</b>

### 6.1 Densidade láctea, concentração de sólidos totais e pH do colostro e leite

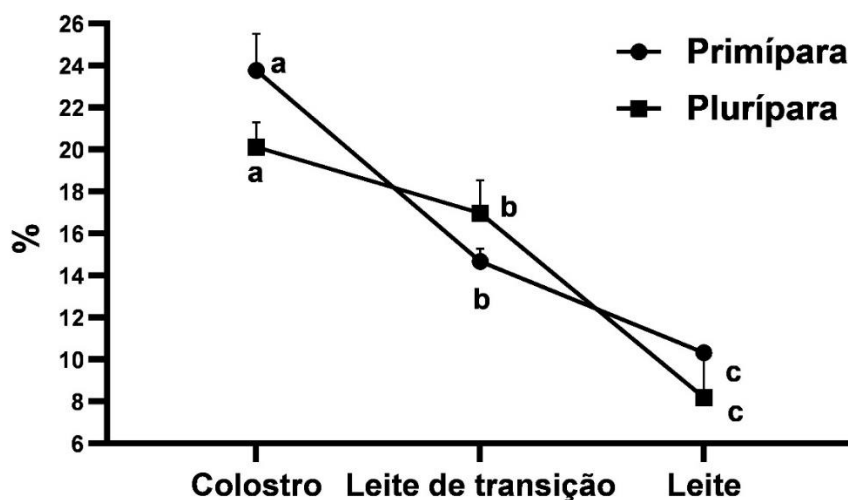
Não foram observadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os grupos experimentais relativos à paridade (primípara vs. plurípara) para as variáveis de densidade láctea, concentração de sólidos totais e pH do colostro e leite (tabela 3 e figura 6).

**Tabela 3** - Média e erro padrão da densidade láctea e pH do colostro e leite nos grupos Plurípara e Primípara em fêmeas da raça Gir Leiteiro e os respectivos valores de probabilidade (P). São Paulo, 2021.

	<b>Plurípara</b>	<b>Primípara</b>	<b>P</b>
<b>Densidade láctea (g/L)</b>	25,64 $\pm$ 4,2	34,54 $\pm$ 5,9	0,21
<b>pH</b>	6,35 $\pm$ 0,04	6,32 $\pm$ 0,02	0,58

Tanto nas fêmeas Gir Leiteiro primíparas, quanto para as pluríparas, houve diminuição progressiva da concentração de sólidos totais em relação ao tempo, ou seja, do colostro (0 h) para o leite de transição (24 h) e leite (5 dias) (figura 6).

**Figura 6** - Sólidos totais (%) no colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas primíparas e pluríparas da raça Gir Leiteiro. a-c letras sobrescritas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os tempos de secreção láctea.



As fêmeas jovens da raça Gir apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) concentração de sólidos totais no colostro e leite, em comparação às vacas adultas e sêniores (tabela 4). Porém, não houve diferença da densidade láctea entre as distintas faixas etárias (tabela 4).

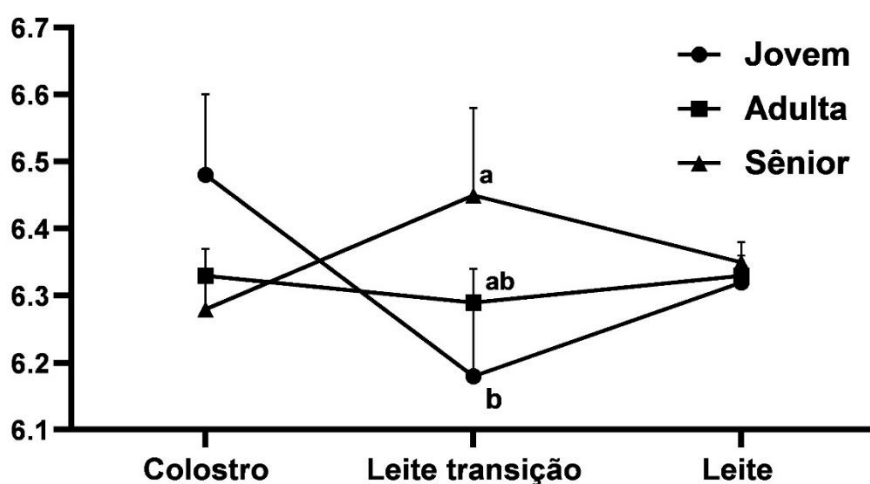
**Tabela 4** - Média e erro padrão da densidade láctea e concentração de sólidos totais no colostro e leite nos grupos Jovem, Adulto, Sênior em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	Jovem	Adulto	Sênior
<b>Densidade láctea (g/L)</b>	38,33 ± 8,89	28,47 ± 4,79	23,61 ± 5,78
<b>Concentração de sólidos totais (mg/mL)</b>	20,67 ± 2,09 <sup>A</sup>	15,64 ± 1,10 <sup>B</sup>	15,71 ± 1,16 <sup>B</sup>

<sup>A,B</sup> letras sobrescritas diferentes entre colunas diferem significativamente ( $P < 0,05$ )

O pH do leite de transição (24 h) nas fêmeas jovens foi superior ( $P<0,05$ ) ao das fêmeas sênior, porém sem diferença com as vacas Gir Leiteiro adultas (figura 7). Nas distintas faixas etárias, não observamos diferença significativa para o pH do colostro, leite de transição e leite (figura 7).

**Figura 7** - pH do colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas jovens, adultas e sênior da raça Gir Leiteiro. A-C letras sobrescritas indicam diferença estatística ( $P<0,05$ ).



A densidade láctea diminuiu progressivamente em relação ao tempo, independente da faixa etária das fêmeas de Gir Leiteiro (tabela 5). Ou seja, o colostro (0 horas) apresentou maior densidade e sólidos totais em comparação ao leite de transição (24 horas) e este, por sua vez, apresentou resultados superiores ao leite (5 dias). Não houve diferença estatística entre o pH do colostro, leite de transição e leite das vacas Gir Leiteiro (tabela 5).

**Tabela 5** - Média e erro padrão da densidade láctea e pH do colostro (0 h), leite de transição (24h) e leite (5 dias) em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	Colostro	Leite de transição	Leite
<b>Densidade láctea (g/L)</b>	<b>56,78 ± 5,29<sup>A</sup></b>	<b>21,52 ± 0,65<sup>B</sup></b>	<b>2,61 ± 3,63<sup>C</sup></b>
<b>pH</b>	6,34 ± 0,03	6,31 ± 0,04	6,33 ± 0,01

<sup>A-C</sup> letras sobrescritas diferentes entre colunas diferem significativamente ( $P<0,05$ )



## 6.2 Proteína total e frações proteicas do soro lácteo

Considerando-se a comparação entre os grupos experimentais relativos à paridade, não foi observado diferença significativa para as variáveis lactoferrina, Ig G de cadeia leve e pesada e  $\beta$ -lactoglobulina (tabela 6). Entretanto, as fêmeas primíparas apresentaram menor concentração ( $P=0,05$ ) de albumina no soro lácteo, em comparação às vacas pluríparas (tabela 12). Por outro lado, a concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina no colostro e leite foi superior ( $P=0,01$ ) no Grupo Primípara, em comparação às pluríparas (tabela 6).

**Tabela 6** - Média e erro padrão da concentração (%) das distintas proteínas do soro lácteo nos grupos Plurípara e Primípara em fêmeas da raça Gir Leiteiro e os respectivos valores de probabilidade (P). São Paulo, 2021.

	<b>Primípara</b>	<b>Plurípara</b>	<b>P</b>
<b>Lactoferrina</b>	36,64 $\pm$ 3,46	40,35 $\pm$ 3,50	0,38
<b>Albumina</b>	<b>41,48 <math>\pm</math> 2,74</b>	<b>50,03 <math>\pm</math> 3,56</b>	<b>0,05</b>
<b>Ig G cadeia pesada</b>	41,81 $\pm$ 3,98	51,42 $\pm$ 4,36	0,09
<b>Ig G cadeia leve</b>	50,54 $\pm$ 3,74	56,80 $\pm$ 4,05	0,22
<b><math>\beta</math>-lactoglobulina</b>	67,86 $\pm$ 2,45	74,10 $\pm$ 2,41	0,07
<b><math>\alpha</math>-lactoalbumina</b>	<b>57,34 <math>\pm</math> 2,77</b>	<b>69,25 <math>\pm</math> 3,51</b>	<b>0,01</b>

Quanto à comparação entre as distintas faixas etárias das fêmeas da raça Gir Leiteiro, não houve diferença significativa para as distintas proteínas no soro lácteo, à exceção da concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina (tabela 7). As fêmeas jovens da raça Gir Leiteiro apresentaram menor concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina no soro lácteo em comparação ao Grupo Sênior (tabela 7).

**Tabela 7** - Média e erro padrão da concentração (%) das distintas proteínas do soro lácteo nos grupos Jovem, Adulto, Sênior em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Jovem</b>	<b>Adulta</b>	<b>Sênior</b>
<b>Lactoferrina</b>	34,08 ± 4,68	39,25 ± 3,66	40,82 ± 4,73
<b>Albumina</b>	40,48 ± 4,40	47,91 ± 3,32	45,35 ± 4,19
<b>Ig G cadeia pesada</b>	38,33 ± 5,61	47,95 ± 4,28	50,76 ± 5,96
<b>Ig G cadeia leve</b>	47,40 ± 4,94	54,37 ± 4,20	57,59 ± 5,06
<b>β-lactoglobulina</b>	64,97 ± 3,59	72,61 ± 2,46	72,70 ± 3,32
<b>α-lactoalbumina</b>	55,07 ± 3,33 <sup>A</sup>	64,30 ± 3,35 <sup>AB</sup>	67,70 ± 5,08 <sup>B</sup>

<sup>A, B</sup> letras sobrescritas diferentes entre colunas diferem significativamente (P<0,05)

Para as concentrações de lactoferrina e albumina no soro lácteo, o colostro e leite de transição apresentaram concentrações superiores ao leite, independente da categoria e faixa etária das fêmeas Gir Leiteiro (tabela 8). Porém, para as concentrações de Ig G de cadeia pesada e leve, houve diminuição progressiva ao longo dos momentos de avaliação (colostro vs. leite de transição vs. leite). O colostro apresentou menor concentração de α-lactoalbumina em comparação ao leite de transição, bem como ao leite (tabela 8).

**Tabela 8** - Média e erro padrão da concentração (%) das distintas proteínas do soro lácteo do colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

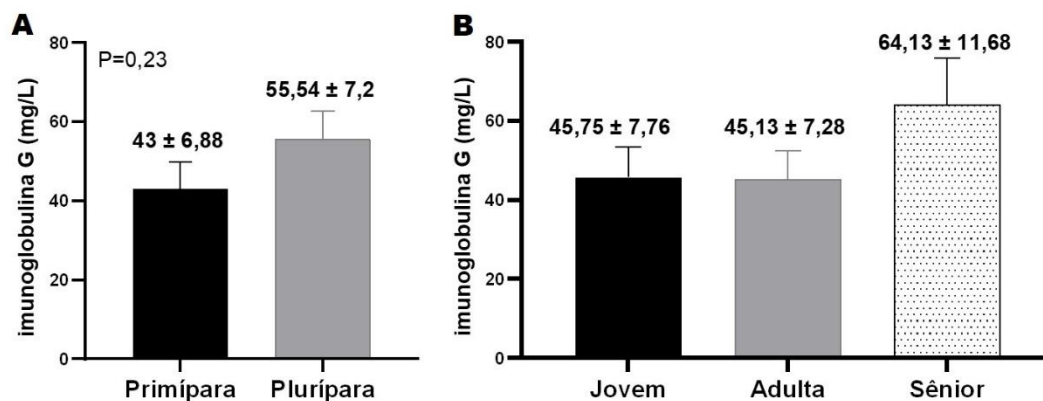
	<b>Colostro</b>	<b>Leite de transição</b>	<b>Leite</b>
<b>Lactoferrina</b>	49,79 ± 2,74 <sup>A</sup>	42,71 ± 4,67 <sup>A</sup>	18,14 ± 1,57 <sup>B</sup>
<b>Albumina</b>	55,68 ± 4,02 <sup>A</sup>	45,21 ± 2,55 <sup>A</sup>	31,89 ± 2,80 <sup>B</sup>
<b>Ig G cadeia pesada</b>	64,72 ± 3,56 <sup>A</sup>	44,99 ± 4,98 <sup>B</sup>	22,76 ± 1,58 <sup>C</sup>
<b>Ig G cadeia leve</b>	72,21 ± 3,06 <sup>A</sup>	51,76 ± 4,08 <sup>B</sup>	29,97 ± 1,39 <sup>C</sup>
<b>β-Lactoglobulina</b>	68,07 ± 2,66	69,03 ± 3,49	76,26 ± 2,81
<b>α-lactoalbumina</b>	59,24 ± 4,11 <sup>A</sup>	57,75 ± 3,64 <sup>B</sup>	73,38 ± 3,16 <sup>B</sup>

<sup>A-C</sup> letras sobrescritas diferentes entre colunas diferem significativamente (P<0,05)

### 6.3 Quantificação de imunoglobulina G no colostro e leite

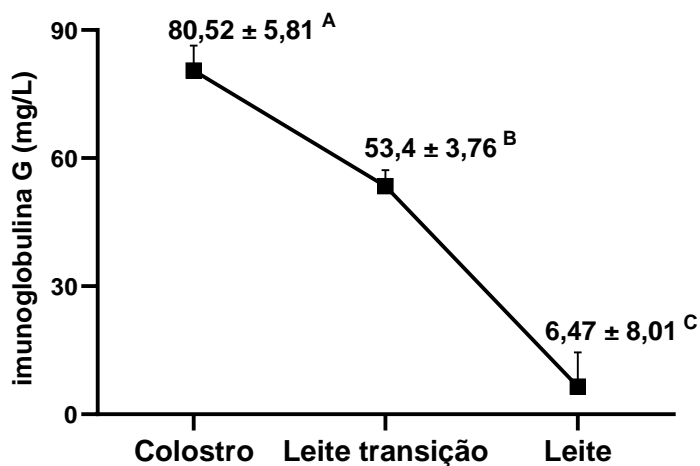
As concentrações de Ig G no colostro e leite não diferiram entre os grupos experimentais relativos à paridade e faixa etária das fêmeas da raça Gir Leiteiro (figuras 8A e B, respectivamente).

**Figura 8** - Concentração de imunoglobulina G (mg/dL) em fêmeas da raça Gir Leiteiro conforme a paridade (A) e faixa etária (B).



No entanto, as concentrações de Ig G diferiram estatisticamente ao longo dos momentos de avaliação (figura 9). O colostro (0 horas) apresentou as maiores concentrações de Ig G, seguido do leite de transição (24 horas) e do leite (5 dias) progressivamente (figura 9).

**Figura 9** - Concentração de imunoglobulina G (mg/dL) no colostro (0 h), leite de transição (24 h) e leite (5 dias) em fêmeas da raça Gir Leiteiro. A-C letras sobrescritas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ).



#### 6.4 Avaliação do perfil hepático e transferência de imunidade passiva dos bezerros neonatos.

À comparação das variáveis séricas dos bezerros nascidos de fêmeas Gir Leiteiro primíparas ou pluríparas, não houve diferença estatística (tabela 9).

**Tabela 9** - Média e erro padrão das variáveis séricas de bezerros oriundos de fêmeas pluríparas e primíparas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Plurípara</b>	<b>Primípara</b>	<b>P</b>
<b>Concentração de Ig G (mg/L)</b>	29,32 ± 4,87	22,41 ± 4,94	0,35
<b>Proteína Total (g/dL)</b>	6,44 ± 0,29	6,13 ± 0,48	0,78
<b>Concentração de sólidos totais (mg/mL)</b>	9,00 ± 0,29	9,11 ± 0,62	0,85
<b>Albumina (g/dL)</b>	2,33 ± 0,06	2,14 ± 0,09	0,11
<b>AST (UI/L)</b>	21,73 ± 2,27	18,31 ± 3,36	0,39
<b>GGT (UI/L)</b>	515,47 ± 136,63	595,77 ± 190,69	0,90
<b>Bilirrubina total (UI/L)</b>	0,52 ± 0,11	0,44 ± 0,06	0,57
<b>Bilirrubina direta (UI/L)</b>	0,24 ± 0,01	0,22 ± 0,03	0,62

Comparando-se as variáveis dos bezerros entre as faixas etárias das mães da raça Gir Leiteiro, não foram observadas diferenças estatísticas, à exceção da concentração sérica de albumina (tabela 10). Os bezerros oriundos de vacas Gir Leiteiro sêniores apresentaram maior concentração de albumina sérica, em comparação àqueles nascidos de fêmeas jovens ou adultas (tabela 10).

**Tabela 10** - Média e erro padrão das variáveis séricas de bezerros oriundos de fêmeas jovens, adulta e sênior da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Jovem</b>	<b>Adulta</b>	<b>Sênior</b>
<b>Concentração de Ig G (mg/L)</b>	26,88 ± 5,06	22,66 ± 5,87	33,62 ± 7,07
<b>Proteína Total (g/dL)</b>	6,50 ± 0,56	5,84 ± 0,35	6,25 ± 0,53
<b>Concentração de sólidos totais (mg/mL)</b>	9,76 ± 0,66	8,50 ± 0,32	9,25 ± 0,62
<b>Albumina (g/dL)</b>	2,16 ± 0,11 <sup>B</sup>	2,19 ± 0,07 <sup>B</sup>	2,50 ± 0,07 <sup>A</sup>
<b>AST (UI/L)</b>	20,28 ± 4,18	17,21 ± 1,67	26,60 ± 4,54
<b>GGT (UI/L)</b>	706,34 ± 240,06	524,08 ± 172,43	400,17 ± 128,85
<b>Bilirrubina total (UI/L)</b>	0,43 ± 0,06	0,40 ± 0,05	0,72 ± 0,27
<b>Bilirrubina direta (UI/L)</b>	0,22 ± 0,04	0,23 ± 0,02	0,27 ± 0,03

<sup>A-B</sup> letras sobrescritas diferentes entre colunas diferem significativamente (P<0,05)

Para as concentrações séricas de Ig G de cadeia pesada e leve nos bezerros da raça Gir Leiteiro, não houve diferença estatística tanto entre os grupos experimentais relativos à faixa etária (tabela 11), quanto à paridade das respectivas mães (tabelas 12).

**Tabela 11** - Média e erro padrão da concentração de Ig G de cadeia pesada e leve de bezerros oriundos de fêmeas jovens, adultas e sêniores da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Jovem</b>	<b>Adulta</b>	<b>Sênior</b>
<b>Ig G cadeia pesada</b>	35,19 ± 5,33	34,99 ± 4,60	57,20 ± 14,55
<b>Ig G cadeia leve</b>	66,46 ± 6,51	54,10 ± 8,19	80,01 ± 8,75

**Tabela 12** - Média e erro padrão da concentração de Ig G de cadeia pesada e leve de bezerros oriundos de fêmeas pluríparas e primíparas da raça Gir Leiteiro. São Paulo, 2021.

	<b>Primípara</b>	<b>Plurípara</b>	<b>P</b>
<b>Ig G cadeia pesada</b>	31,41 ± 4,43	46,48 ± 6,69	0,25
<b>Ig G cadeia leve</b>	56,61 ± 7,78	68,88 ± 6,83	0,11

## 6.5 Análise de correlação.

Em referência aos grupos experimentais relativos à faixa etária das fêmeas Gir Leiteiro, no Grupo Jovem, houve correlação positiva e significativa entre a concentração láctea de Ig G e a densidade láctea (colostrômetro;  $r=0,84$ ;  $p<0,0001$ ), concentração de sólidos totais ( $r=0,94$ ;  $p<0,0001$ ), concentração de Ig G de cadeia leve ( $r=0,73$ ;  $p=0,002$ ), concentração láctea de lactoferrina ( $r=0,53$ ;  $p=0,03$ ) e albumina do soro lácteo ( $r=0,53$ ;  $p=0,04$ ).

Já no grupo de vacas adultas, também foi possível observar correlações positivas entre a concentração láctea de Ig G e a densidade láctea (colostrômetro;  $r=0,83$ ;  $p<0,0001$ ), concentração de sólidos totais ( $r=0,81$ ;  $p<0,0001$ ), concentração láctea de IgG de cadeia leve ( $r=0,61$ ;  $p=0,0003$ ) e cadeia pesada ( $r=0,52$ ;  $p=0,002$ ), concentração de lactoferrina ( $r=0,43$ ;  $p=0,01$ ) e albumina no soro lácteo ( $r=0,39$ ;  $p=0,02$ ). Ademais, a concentração láctea de Ig G correlacionou-se negativamente com a concentração de alfa-lactoalbumina no soro lácteo ( $r=-0,47$ ;  $p=0,007$ ).

Para o grupo de vacas sênior, houve correlação positiva e significativa entre a concentração láctea de Ig G e de sólidos totais ( $r=0,57$ ;  $p=0,01$ ). Ainda, a concentração de lactoferrina no soro lácteo correlacionou-se positivamente com a concentração láctea de Ig G de cadeia leve ( $r=0,85$ ;  $p<0,0001$ ), Ig G de cadeia pesada ( $r=0,81$ ;  $p<0,0001$ ) e albumina no soro lácteo ( $r=0,69$ ;  $p=0,001$ ).

Em relação à análise de correlação dos grupos experimentais relativos à paridade, houve correlação positiva, no Grupo Primíparas, entre a concentração láctea de Ig G e a densidade láctea (colostrômetro;  $r=0,83$ ;  $p<0,0001$ ), concentração de sólidos totais ( $r=0,89$ ;  $p<0,0001$ ) e concentração láctea de Ig G de cadeia leve ( $r=0,58$ ;  $p=0,001$ ). Por outro lado, a concentração láctea de Ig G correlacionou-se negativamente com a concentração de alfa-lactoalbumina no soro lácteo ( $r=-0,58$ ;  $p=0,002$ ). Ademais, houve correlação positiva entre a concentração láctea de beta-lactoglobulina e as concentrações de alfa-lactoalbumina ( $r=0,53$ ;  $p=0,002$ ), lactoferrina ( $r=0,48$ ;  $p=0,0072$ ), Ig G de cadeia pesada ( $r=0,41$ ;  $p=0,02$ ) e Ig G de cadeia leve ( $r=0,38$ ;  $p=0,03$ ). Já a concentração de alfa-lactoalbumina no soro lácteo correlacionou-se

negativamente com concentração de sólidos totais ( $r=-0,48$ ;  $p=0,02$ ) e densidade láctea (colostrômetro;  $r=-0,46$ ;  $p=0,009$ ).

No grupo de fêmeas Gir Leiteiro pluríparas, houve correlações positivas entre a densidade láctea (colostrômetro;  $r=0,58$ ;  $p<0,0001$ ) e a concentração de sólidos totais ( $r=0,65$ ;  $p<0,0001$ ), Ig G de cadeia leve ( $r=0,54$ ;  $p=0,0004$ ), Ig G de cadeia pesada ( $r=0,41$ ;  $p=0,01$ ), concentração de lactoferrina no soro lácteo ( $r=0,38$ ;  $p=0,018$ ). Por outro lado, a concentração láctea de Ig G correlacionou-se negativamente com a concentração de alfa-lactoalbumina no soro lácteo ( $r=-0,38$ ;  $p=0,01$ ).

Para as análises nos bezerros neonatos oriundos de fêmeas Gir Leiteiro de distintas faixas etárias, no Grupo Jovem, houve correlação positiva entre a concentração sérica de Ig G e a concentração de proteína total ( $r=0,91$ ;  $p=0,03$ ) e Ig G de cadeia leve ( $r=0,89$ ;  $p=0,04$ ). No grupo dos bezerros provenientes de vacas adultas, observou-se correlação positiva entre as concentrações séricas de Ig G e proteína total ( $r=0,93$ ;  $p=0,0006$ ), GGT ( $r=0,92$ ;  $p=0,0009$ ) e sólidos totais ( $r=0,87$ ;  $p=0,004$ ). Já no Grupo Sênior, a concentração sérica de GGT correlacionou-se positivamente com a concentração de sólidos totais ( $r=0,98$ ;  $p=0,01$ ) e proteína total ( $r=0,96$ ;  $p=0,03$ ).

Em relação às análises dos bezerros provenientes de fêmeas Gir Leiteiro primíparas, houve correlação positiva entre as concentrações séricas de Ig G e proteína total ( $r=0,94$ ;  $p=0,001$ ), GGT ( $r=0,87$ ;  $p=0,009$ ) e concentração de sólidos totais ( $r=0,87$ ;  $p=0,01$ ). Já no Grupo Pluríparas, a concentração sérica de Ig G correlacionou-se positivamente com a concentração sérica de proteína total ( $r=0,79$ ;  $p=0,005$ ), GGT ( $r=0,73$ ;  $p=0,01$ ) e sólidos totais ( $r=0,65$ ;  $p=0,04$ ).

## 7 Discussão

A presente pesquisa descreve alguns parâmetros físico-químicos, proteicos e imunológicos do colostro e leite, em função da paridade e faixa etária de fêmeas da raça Gir Leiteiro, bem como a eficiência na transferência de imunidade passiva aos respectivos bezerros neonatos.

De forma esperada, observamos redução gradativa temporal da densidade láctea, concentração de sólidos totais, concentração de Ig G de cadeia leve e pesada, conforme houve mudança da secreção de colostro para leite de transição e leite nas fêmeas da raça Gir Leiteiro. Tal mudança na composição da secreção láctea já é relatada como padrão de transformação normal após o parto, não diferindo das demais raças bovinas (OYENIYI & HUNTER, 1978).

Por outro lado, no presente estudo, observamos maior concentração de lactoferrina, albumina e  $\alpha$ -lactoalbumina no colostro e leite de transição de vacas Gir Leiteiro, em comparação ao leite, demonstrando um padrão proteico diferencial conforme o avanço das fases de lactação. As diferenças observadas entre colostro e leite de transição com o leite aos 5 dias está em consonância direta com a diluição da secreção láctea ao longo do tempo. Porém, tal diluição dos compostos proteicos ocorre de maneira mais tardia (entre o leite de transição e leite), em comparação ao decréscimo das concentrações de imunoglobulinas, o que pode refletir o aumento da secreção de lactose a partir do parto (SANTOS et al., 2017). À semelhança do observado por Raimondo et al. (2013) para vacas da raça Jersey, as concentrações de lactoferrina e albumina no soro lácteo são influenciadas pelo período de lactação, com redução progressiva entre o terço inicial e médio e o terço final da lactação.

### 7.1 Efeito da paridade sobre as características do colostro e leite

Como hipótese do presente trabalho, a qualidade colostrar e a eficiência da colostragem são influenciadas pelo número de partos (categoria animal) em fêmeas da raça Gir Leiteiro, conforme anteriormente observado em raças taurinas, por haver aumento significativo na concentração de imunoglobulinas



colostrais entre o segundo e o terceiro parto (SILPER et al., 2012. FRANKLIN et al., 2005). Entretanto, tal hipótese não pôde ser comprovada, uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre a concentração láctea de Ig G, densidade láctea e concentração de sólidos totais entre fêmeas Gir Leiteiro primíparas e pluríparas. O presente resultado demonstra não haver influência da paridade sobre a qualidade colostrar de novilhas e vacas da raça Gir leiteiro.

A ausência da paridade como fator influenciador da qualidade colostrar no Gir Leiteiro pode ser explicada por uma característica reprodutiva fisiológica da raça, pois as fêmeas entram em puberdade por volta de 22 a 24 meses (NOGUEIRA, 2004). Contrariamente, as fêmeas taurinas apresentam reprodução precoce, aos 12 a 15 meses para a raça holandesa, por influência da recria e manejo nutricional adequado (CHELIKANI et al., 2003). Desta maneira, o início tardio da reprodução na raça Gir Leiteiro reverbera como um fator importante para a igualdade da qualidade colostrar entre novilhas e vacas, pois as primeiras estão há mais tempo expostas aos antígenos ambientais e vacinais, melhorando a qualidade colostrar à semelhança das vacas pluríparas. De fato, de acordo com Feitosa et al. (2010), o colostro de primíparas da raça holandesa possui menor concentração de imunoglobulinas quando comparado às vacas pluríparas, podendo ter influência direta da menor frequência de exposição aos antígenos ambientais. Desta maneira, destacamos a importância de tais dados no manejo dos bezerros e colostragem em propriedades da raça Gir Leiteiro, além da contribuição para futuros estudos fisiológicos sobre a potencial utilização do colostro e leite de fêmeas Gir Leiteiro na bovinocultura e também em saúde pública.

As novilhas da raça Gir Leiteiro apresentaram maior concentração de albumina no soro lácteo, bem como menor concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina, em comparação às vacas pluríparas. Podemos inferir que tal perfil proteico pode estar relacionado ao volume de leite produzido, uma vez que a diluição da secreção láctea é proeminente em fêmeas com maior produção volumétrica de leite, em função do aumento das concentrações de lactose. Sabe-se que as fêmeas pluríparas apresentam maior capacidade para a produção leiteira comparando-se às novilhas, por haver metabolismo mais adaptado ao estabelecimento da lactação. De fato, a concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina na

secreção láctea está diretamente relacionada à biossíntese de lactose e, portanto, ao controle osmótico e influxo de água, resultando em diluição do leite, mas acarretando em maior produção láctea pela glândula mamária (SANTOS et al., 2017). Desta forma, indiretamente, é possível salientar que as novilhas da raça Gir Leiteiro também apresentam menor capacidade de produção de láctea, em comparação às pluríparas.

Em relação à eficiência da colostragem, não houve diferenças significativas na avaliação sérica dos bezerros em relação à paridade das fêmeas Gir Leiteiro. Por outro lado, podemos observar um padrão estabelecido para a transferência de imunidade passiva, com base nos resultados da concentração sérica de Ig G, bem como de proteína total, sólidos totais e atividade da gama glutamil transferase (GGT), de acordo com Feitosa et al. (2005). Ademais, observamos correlação positiva entre as concentrações séricas de Ig G e de proteína total, GGT e concentração sérica de sólidos totais, corroborando que a eficiência da transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Gir Leiteiro também pode ser verificada indiretamente por meio da avaliação das referidas variáveis séricas.

## **7.2 Efeito da faixa etária sobre as características do colostro e leite**

De forma semelhante à paridade, não foi possível observar influência da idade das fêmeas da raça Gir sobre a qualidade colostrálica, em relação à densidade láctea (colostrômetro) e concentração láctea de imunoglobulina G. Embora na raça holandesa já tenha sido descrito acréscimo da concentração colostrálica de imunoglobulinas conforme a ordem de parto e, por conseguinte, com a idade do animal (PRITCHETT et al., 1991), tal relação não pôde ser estabelecida para as fêmeas da raça Gir Leiteiro. Os resultados do presente experimento são antagônicos aos descritos por Oyeniye e Hunter (1978) e Pritchett et al. (1991) na raça holandesa, para os quais as fêmeas mais jovens (segunda lactação) apresentam maior concentração de Ig G colostrálica em comparação às vacas mais velhas (quarta a sétima lactação), a despeito de não haver diferença

na concentração de Ig G na primeira lactação, comparando-se à segunda e terceira lactação.

Por outro lado, as fêmeas jovens da raça Gir Leiteiro apresentaram maior concentração de sólidos totais no colostro e leite, em comparação às adultas e sêniores. Apesar da correlação positiva entre as concentrações de sólidos totais e de Ig G no colostro e leite de fêmeas jovens, o qual denotaria, eventualmente, a qualidade colostrada por refratometria (Brix), não foi possível evidenciar diferença estatística entre os grupos relativos à faixa etária para as concentrações lácteas de Ig G. É importante salientar que a análise do colostro e leite por meio do refratômetro óptico Brix estima a porcentagem de sólidos totais na amostra, englobando lipídios (gordura), carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. Portanto, é possível inferir que a maior concentração de sólidos totais no colostro e leite de fêmeas jovens da raça Gir possa ser consequência da composição diferencial de outros elementos, tais como a lactose ou fosfolípidos e não necessariamente relativo à concentração de imunoglobulinas. Desta maneira, futuros estudos devem ser conduzidos de forma a detalhar todos os elementos sólidos formadores do colostro e leite de fêmeas da raça Gir, em função, principalmente, da faixa etária.

O Grupo Jovem apresentou concentração de  $\alpha$ -lactoalbumina no soro lácteo inferior ao Grupo Sênior, porém sem diferença estatística com as fêmeas do Grupo Adulto. Desta forma, podemos sugerir maior produção de  $\alpha$ -lactoalbumina na glândula mamária de fêmeas sêniores da raça Gir, em comparação às jovens, indicando melhor estabelecimento da lactação conforme o envelhecimento. Ademais, fêmeas jovens demandam maior gasto energético para distintas funções fisiológicas, tais como crescimento e desenvolvimento corporal (ARAÚJO, 2014), podendo prejudicar, eventualmente, a produção e composição do leite. Adicionalmente, o pH do leite de transição (24 h) nas fêmeas jovens foi superior ao das fêmeas sênior Gir Leiteiro, o que corrobora a maior diluição láctea das vacas com capacidade de produção leiteira estabelecida. De acordo com Raimondo et al. (2009), pH mais baixo da secreção láctea deve-se à maior concentração de sólidos totais, denotando que as novilhas não apresentam plena diluição do leite de transição, em comparação às vacas sêniores.

Apesar da referida perda funcional do parênquima da glândula mamária de vacas mais velhas (SOARES et al., 2009), acarretando diminuição direta do aporte produtivo nas lactações, no presente experimento, não foram observadas diferenças significativas na composição proteica do colostro e leite entre as faixas etárias e a paridade das fêmeas Gir Leiteiro. Segundo Carvalho et al. (2001), vacas adultas e pluríparas possuem maior capacidade orgânica e digestiva e melhor desempenho cardiorrespiratório, tornando mais eficiente a colostrogênese, lactogênese e estabelecimento da lactação.

### **7.3 Considerações finais**

Os resultados do presente estudo permitem ressaltar a segurança em utilizar matrizes Gir Leiteiro mais velhas em programas de reprodução, sem prejuízos para a qualidade colostrada e do leite, bem como para a transferência passiva de imunidade aos neonatos. Desta maneira, é possível aumentar a longevidade das fêmeas nos rebanhos e, portanto, otimizar a produção por animal. O melhor aproveitamento das vacas em lactação torna a criação de Gir Leiteiro mais viável e rentável, do ponto de vista produtivo e comercial.

Embora a faixa etária das fêmeas Gir Leiteiro seja influenciadora da composição proteica do leite (concentração de sólidos totais e  $\alpha$ -lactoalbumina), ainda assim, tais características assemelham-se aos padrões de produção de leiteira nos bovinos. Desta maneira, tendo em vista o perfil proteico, o leite oriundo de vacas da raça Gir Leiteiro apresenta plena indicação para consumo humano.

## 8 Conclusão

- A paridade das fêmeas da raça Gir Leiteiro não influencia a qualidade imunológica do colostro e leite, bem como a transferência de imunidade passiva aos respectivos bezerros. Porém, a paridade determina mudanças na composição proteica (albumina e  $\alpha$ -lactoalbumina) tanto do colostro, como do leite de transição e do leite.

- A faixa etária das fêmeas da raça Gir Leiteiro não influencia a qualidade imunológica do colostro e leite, bem como a transferência de imunidade passiva aos respectivos bezerros. Porém, a faixa etária determina mudanças na composição proteica (concentração de sólidos totais e  $\alpha$ -lactoalbumina) tanto do colostro, como do leite de transição e do leite.

## 9 Referências

Agência IBGE Notícias. CABRAL, Umberlândia et al. Produtividade de leite cresce 62% em 11 anos; produção chega a 30 bilhões de litros: censo agropecuário. **Censo agropecuário**. 2019. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/26457-produtividade-de-leite-cresce-62-em-11-anos-producao-chega-a-30-bilhoes-de-litros>. Acesso em: 8 out. 2019.

AROEIRA, J. A. D. C. Duração da Gestação em Gado Zebu. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 15 (2): 167-169. 1980.

AIMUTIS, W. L.; Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. **J Nutr**. 2004; 134(4):989s-95s.

ARAÚJO, T.P.M. Desempenho produtivo de vacas zebuínas em características de importância à produção de leite. 2014. Dissertação de mestrado – **Unidade acadêmica especializada em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, Rio Grande do Norte.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. et al. Fisiologia Reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.205-211, 2007.

BIRGEL JUNIOR, E. H. Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Gir e Girolando criados no Estado de São Paulo. 2006. **Tese. (Livre Docência)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BLECK G. T. WHEELER, M. B.; HANSEN, L. B., CHESTER-JONES, H.; MILLER, D. J. Lactose synthase components in milk: Concentrations of a-lactalbumin and B1,4-galactosyltransferase in milk of cows from several breeds at various stages of lactation. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, n. 2, p. 241-247, 2009.

BRANDON, M. R.; WATSON, D.L.; LASCELLES, A.K. The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 49, n. 6, p. 613-23. 1971.

BREW, K. Alfa-lactoalbumin In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. *Advanced dairy chemistry - 1 proteins*. Cork: Kluwer academic, 2003. p. 387-419.

CRITTENDEN, R. G. & BENNETT, L. E. Cow's milk allergy a complex disorder. **Jam Cool Nuter**. 2005.

CHELIKANI, P.K.; AMBROSE J.D.; KANNELLY J.J. Effect of dietary energy and protein density on body composition, attainment of puberty, and ovarian follicular dynamics in dairy heifers. **Theriogenology**, v.60, p.707-725, 2003.

DEELEN, S. M.; OLLIVETT, T. L.; HAINES, D. M. and LESLIE, K. E 2014. Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. **J. Dairy Sci.** 97 :3838-3844.

DUFTY J.H. Clinical studies on bovine parturition--foetal aspects. **Aust Vet J.** 1973 Apr;49(4):177-82. doi: 10.1111/j.1751-0813.1973.tb06781.x. PMID: 4711143.

FARRELL, H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T, BROWN, E. M.; BUTLER, J. E., CREAMER, L. K.; HICKS, C. L: HOLLAR, C. M.; NG-KVWAI-HANG, K. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk- Sixth Revision. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.

FEITOSA, F. L. F. et al. Diagnóstico De Falha De Transferência De Imunidade Passiva Em Bezerros Através Da Determinação De Proteína Total E De Suas Frações Eletroforéticas, Imunoglobulinas G E M E Da Atividade Da Gama Glutamil Transferase No Soro Sangüíneo. **Ciência Rural** [online]. 2001, v. 31, n. 2 pp. 251-255.

FORMAGGIONI, P., SUMMER, A., MALACARNE, M.; MARIANI, P. Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in bos genus. **Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria**, v. XIX, n. 1, p., 1999.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. Dairy chemistry and biochemistry. London: **Blackie Academic e Professional**, 1998. 478 p.

FRANKLIN, S. T.; NEWMAN, M. C.; NEWMAN, K. E.; MEEK, K. I. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 766-775, 2005.

HURLEY, W. L.; THEIL, P. K. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. **Nutrients**, 3, p. 442-474, 2011.

KELLER HL, GHERMAN LI, KOSA RE, BORGER DC, WEISS WP, WILLETT LB. Kinetics of plasma fructose and glucose when lactose and fructose are used as energy supplements for neonatal calves. **Journal of Animal Science**. 1998; 76 (8): 2197-2204.

KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD D. M.; PROTEINS in whey: chemical, physical and functional properties. **Adv Foods Nutr Res**. 1989; 33:343-438.

KURZ M, WILLETT L. Carbohydrate, enzyme, and haematology dynamics in newborn calves. **Journal of Dairy Science**. 1991; 74:2109-2118.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LEVIEUX, D.; OLLIVER, A. Bovine immunoglobulin G, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin and serum albumin and milk during post-partum period. **Journal of Dairy Research**, v. 66, n. 3, p. 421-430, 1999.

LIMA, T. C. C. Polimorfismo do gene da beta-caseína em reba



nhos zebuínos leiteiros no estado do Rio Grande do Norte **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Macaíba-RN. 2014.

LONNERDAL, B. Lactoferrin. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. Advanced dairy chemistry-1 protein. Cork: **Kluwer academic**, 2003 p. 449-466.

MARKUS C.R., OLIVER B., DE HAAN E. H. F. Whey Protein rich in alfa-lactoalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. **Am J Clin Nutr**. 2002; 75(6):1051-6.

MARNILA, P. KORHONEN, H. Immunoglobulin. In: ROGINSKI, H.;FUQUAY, J. W.; FOX, P. F. Encyclopedia of dairy sciences. Werrabee: **Academic Press**, 2003. p. 1950-1956.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in South American Bos indicus (Zebu) cattle. **Animal reproduction science**, v. 82-83, p. 361–72, jul. 2004.

OTAVIANO, A. R. Polimorfismo dos genes das caseínas e sua utilização na detecção de misturas de leite bovino e bubalino. **Tese de Doutorado**. Faculdade e ciências agrárias e veterinária. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal-SP. 2006.

OYENIYI, O. O.; HUNTER, A. G.; Colostral constituents including immunoglobulins in the first three milkings postpartum. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 1, p. 44-48, 1978.

PASCHAL J. C.; SANDERS J. O.; KERR JL. Calving and weaning characteristics of Angus-, Gray Brahman-, Gir-, InduBrazil-, Nellore-, and Red Brahman-sired F1 calves. **J. Anim. Sci**, v.69, p.2395-2402, 1991.

PICCIONE G, CASELLA S, PENNISI P, GIANNETTO C, COSTA A, CAOLA G. Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2010;62(1):1-12.

PRITCHETT, L. C. et al. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.7, p.2336-2341, 1991.

QUIGLEY, J. D.; LAGO, A.; CHAPMAN, C.; ERICKSON, P.; POLO, J. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 2, 2013.

QUIGLEY, J. Using a refractometer. **Calf notes #39**. 1998b.

QUIGLEY, J. Using the Colostrometer to Measure Colostrum Quality. **Calf notes #22**. 1998a.

RAIMONDO R. F.S., MIYASHIRO S. I., MORI C. S. E BIRGEL JUNIOR E. H. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. **Pesq. Vet. Bras.** 33(1):119-125, 2013.

RAIMONDO, R. F. S. Proteinograma da secreção láctea de cabras. 2011. Tese de doutorado – **Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo**, São Paulo.

RAIMONDO, R. F. S.; BRANDESPIM, F. B.; PRINA, A. P. M. et al. Avaliação do pH e da eletrocondutividade do leite de bovinos da raça Jersey durante o primeiro mês de lactação. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 447-456, 2009.

REBER A. J., DONOVAN D. C., GABBARD J., ET AL. Transfer of maternal colostrum leukocytes promotes development of the neonatal immune system

Part II. Effects on neonatal lymphocytes. **Vet Immunol Immunopathol** 2008;123(3-4):305-313.

ROCHA, N. B. Valor, variação na concentração de metabólitos sanguíneos e avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros leiteiros neonatos. **Dissertação de mestrado**, ESALQ – USP. Piracicaba, 2015.

Salzano Jr I. Nutritional supplements: practical applications in sports, human performance and life extension. Symposium series 007; São Paulo; 1996-2002. p.75-202.

SANTOS, G.; SILVA, J. T.; SANTOS, F. H. R.; BITTAR, C. M. M. Nutritional and microbiological quality of bovine colostrum samples in Brazil, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 1, p. 72-79, 2017.

SANTOS, R. Do Zri-Bhu ao Zebu: o gado sagrado da Índia e do Brasil – **ABCZ**. 808 p. - 2016.

SAWYER M, WILLADSEN CH, OSBURN BI, MCGUIRE TC. Passive transfer of colostral immunoglobulins from ewe to lamb and its influence on neonatal lamb mortality. **Journal of American Veterinary Medical Association**. 1977;171(12):1255-1259.

SAWYER, L. Beta - lactoglobulin In: FOX, P. F, MCSWEENEY, P. L. H. Advanced dairy chemistry-1 protein. Cork: **Kluwer academic**, 2003. p. 319-386.

SGARBIERI V. C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades-degradações-modificações. São Paulo: **Varela**; 1996. 517p.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397, 2004.

SHANNON L. K., CHATTERTON D., NIELSEN K., LÖNNERDAL B. Glycomacropéptide and alfa-lactoalbumin supplementation of infant formula

affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. **Am J Clin Nutr.** 2003; 77(5):1261-8.

SILPER, B.F.; COELHO, S.G.; MADEIRA, M.M.F.; RUAS, J.R.M.; LANA, A.M.Q.; REIS, R.B.; SATURNINO, H.M. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64, n.2, p.281-285, 2012.

SILVA D.O.; SANTANA M.L; AYRES D.R.; MENEZES G.R.O; SILVA L.O.C.; NOBRE P.R.C.; PEREIRA R.J. Genetic parameters for stayability to consecutive calvings in **Zebu cattle**. **Animal.** 2018 Sep;12(9):1807-1814. doi: 10.1017/S1751731117003457. Epub 2017 Dec 22. PMID: 29268814.

SOARES FILHO, P. M.; BELÉM, P. A. D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; SOLCEDO, J. H. P. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p.1033-1037. ISSN 0103-8478. 2001.

VERCESI FILHO, A.E.; CAMARGO, G. M. F.; CARDOSO, D. F.; ZADRA, L. F.; FERNANDES, A. R.; TONHATI, H. Identificação de alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Gir Leiteiro. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL**. 9., 2012. João Pessoa. Anais... João Pessoa, Paraíba: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2012.

WELLS, S. J.; DARGATZ, D. A. S.; OTT, L., Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States, **Preventive Veterinary Medicine**, Volume 29, Issue 1, 1996, Pages 9-19, ISSN 0167-5877.

WINDEYER M. C.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S. M.; HODGINS, D. C.; LISSEMORE, K. D.; LEBLANC, S. J.; Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age, **Preventive Veterinary Medicine**, Volume 113, Issue 2, 2014, Pages 231-240, ISSN 0167-5877.

YANAKA R, CAMARGO DG, BOVINO F, SANTOS WA, DÓCUSSE MR, CAVASSANO BS, et al. Período de absorção intestinal de macromoléculas em cabritos recém-nascidos após a ingestão de colostro bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2012;32(8):794-802.

YOUNGQUIST, R. S., THRELFALL, W. R. (2007). **Current Therapy in Large Animal Theriogenology (2nd Edition)**. Missouri, USA: Saunders Elsevier.

HARAGUCHI F.K.; ABREU W.C.; PAULA H. Proteínas do soro do leite: composição, ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 2013 1852 propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista Brasileira de Nutrição**, 19(4):479-488, jul./ago., Campinas, 2006.

SOARES, G.V.M.; RANGEL, A.H.N., AGUIAR, E.M et al. Influência da ordem de parto sobre a produção de leite de vacas zebuínas. **Acta Veterinária Brasília**, v.3, n.2, p. 106-110, 2009.

Hühn S, Guimarães MCF, Nascimento CNB, Carvalho LODM, Moreira ED, Lourenço Júnior JB. Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalinos. Belém: **EMBRAPA/CPATU**, 1982. 14p. (Boletim de pesquisa, 36).

RIBEIRO, A. B, TINOCO, A.F.F .; LIMA, G.FC et al. Produção e composição do leite de vacas Gir e Guzerá nas diferentes ordens de parto. **Revista Caatinga**, v.22, n3, p 46-51, Mossoró-RN, 2009.

ZIMECKI, M.; ARTYM, J.; CHODACZEK, G.; KOCIEBA, M.; KRUZEL, M. Effects of lactoferrin on the immune response modified by the immobilization stress. **Pharmacol Rep**. 2005 Nov-Dec;57(6):811-7. PMID: 16382201.

TSUJI, S.; HIRATA, Y.; MUKAI, F. et al. Comparison of lactoferrin content in colostrum between different cattle breeds. **J. Dairy Sci.**, v.73, p.125-128, 1990.