

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, MORBI-MORTALIDADE E
DESENVOLVIMENTO DE BEZERROS DA RAÇA
BRAHMAN PRODUZIDOS POR FERTILIZAÇÃO *IN*
VITRO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

ANDREZA PIMENTA DE OLIVEIRA

Botucatu – SP

2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, MORBI-MORTALIDADE E
DESENVOLVIMENTO DE BEZERROS DA RAÇA
BRAHMAN PRODUZIDOS POR FERTILIZAÇÃO *IN*
VITRO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

ANDREZA PIMENTA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Roberto
Calderon Gonçalves

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Pimenta-Oliveira, Andreza.

Avaliação clínica, morbi-mortalidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman produzidos por fertilização *in vitro* e inseminação artificial / Andreza Pimenta de Oliveira. - Botucatu, 2011

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: Roberto Calderon Gonçalves

Capes: 50501070

1. Bovino - Inseminação artificial. 2. Fertilização *in vitro*. 3. Zebu.

Palavras-chave: Bezerros; Fertilização *in vitro*; Imunidade passiva; Morbi-mortalidade.

Nome da Autora: Andreza Pimenta de Oliveira

Título: AVALIAÇÃO CLÍNICA, MORBI-MORTALIDADE E DESENVOLVIMENTO DE BEZERROS DA RAÇA BRAHMAN PRODUZIDOS POR FERTILIZAÇÃO *IN VITRO* E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Ass. Dr. Roberto Calderon Gonçalves

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Nereu Carlos Prestes

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Francisco Leydson Formiga Feitosa

Membro

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal

Curso de Medicina Veterinária – UNESP – Araçatuba

Data da Defesa: vinte e oito de janeiro de 2011.

Dedicatória

Ao meu esposo, José Paes de Oliveira Filho, meu
grande amor e amigo, pelo exemplo, pelos
ensinamentos, pela força, pelo apoio e
companheirismo em todas as horas.

Aos meus pais, Antonio Eduardo e Zita, pela
educação e estudos, em especial à minha mãe, pelo
apoio e estímulo incondicionais.

Aos meus irmãos queridos, Marcelo, Cynthia e Karina, pelos insubstituíveis momentos de alegria, em especial ao meu irmão pela ajuda durante o cursinho e a faculdade e pelo companheirismo.

Ao meu sogro, José Paes, que mesmo distante,
sempre participou e se interessou como ninguém, por
todas as etapas do meu curso de mestrado.

Agradecimientos

Agradecimentos

Ao meu orientador **Prof. Ass. Dr. Roberto Calderon Gonçalves**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, campus de Botucatu, pelo apoio, amizade e compreensão durante todos esses anos.

À Agropecuária W2R e seus proprietários **Wilson R. Rodrigues** e **Gustavo A. Fioresi Rodrigues** por terem permitido a realização deste experimento, pela compreensão da minha ausência para realização do curso de mestrado e principalmente ao Sr Wilson, pela confiança, apoio e amizade de tantos anos.

Aos funcionários da Agropecuária W2R, **Edilson F. Marques**, **Maria E. de Oliveira**, **Aparecido Miguel Ramos** e **Cícero B. Figueiredo Júnior**, pela colaboração na colheita de amostras e dados.

Aos professores do **Departamento de Clínica Veterinária** da FMVZ/UNESP – Campus de Botucatu, os quais de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste estudo.

Aos amigos **Amanda K. Siqueira**, **Ana C. Gorino**, **Didier Q. Cagnini**, **Fábio André P. de Araújo**, **Flávia A. de Oliveira**, **Luisa Gouveia**, **Paulo Henrique J. da Cunha** e **Peres R. Badial**, pela amizade e momentos de alegria.

Ao **Prof. Dr. Adriano Dias**, Depto de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu/Unesp, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À **Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP** pelo auxílio à pesquisa possibilitando o desenvolvimento deste projeto.

Agradeço pelas intervenções de **Santa Rita de Cássia** ao longo de minha vida.

Lista de quadros

Lista de quadros

Capítulo II

Quadro 1. Duração média da gestação (dias), tipo do parto e forma de fornecimento do colostro dos bezerros da raça Brahman do grupo produção <i>in vitro</i> de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20).	42
Quadro 2. Médias (kg) dos pesos ao nascimento (PN) e aos 30 (P30), 60 (P60), 90 (P90), 120 (P120) e 210 dias de vida (P210) dos bezerros da raça Brahman do grupo produção <i>in vitro</i> de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20).	43
Quadro 3. Frequência (%) de doenças e óbitos dos bezerros da raça Brahman do grupo produção <i>in vitro</i> de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20). Frequência (%) de casos de diarreia, onfalopatias, tristeza parasitária bovina (TPB), úlcera de córnea, dermatofilose e broncopneumonia (BCP) nos bezerros do grupo PIV e IA.	44

Sumário

Sumário

	página
Resumo	xiii
Abstract	xiv
Capítulo I	
1. Introdução	01
2. Revisão de Literatura	04
Capítulo II	
1. Trabalho a ser enviado para revista Pesquisa Veterinária Brasileira	20
Conclusões	45
Referências Bibliográficas	47
Anexo 1	61

PIMENTA-OLIVEIRA, A. **Avaliação clínica, morbi-mortalidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman produzidos por fertilização *in vitro* e inseminação artificial.** Botucatu, 2011. 66p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O Brasil é líder mundial na produção de embriões por fertilização *in vitro* (FIV). A FIV contribui para o melhoramento genético do rebanho, contudo, alguns trabalhos indicam que os bezerros nascidos por FIV são mais susceptíveis à doença neonatal e têm maiores taxas de mortalidade neonatal quando comparados a outras técnicas de produção de bezerros como a inseminação artificial (IA) e monta natural. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a influência da forma de concepção, FIV e IA, na sanidade e desenvolvimento de bezerros Brahman nascidos por FIV (Grupo FIV, n = 80) e IA (Grupo IA, n = 20) do nascimento à desmama. Todos os bezerros amostrados eram provenientes de uma mesma propriedade e mamaram o colostro de forma direta ou indireta até seis horas após o nascimento. Amostras sanguíneas destinadas à determinação da atividade sérica da gamaglutamiltransferase (GGT), da gamaglobulina e da concentração sérica de proteína total (PT) foram colhidas de todos os bezerros às 24 horas de vida com o objetivo de avaliar a transferência de imunidade passiva. A duração da gestação e o peso ao nascimento foram significativamente maiores nos bezerros do grupo FIV. Contudo, não foi observada diferença estatística no peso à desmama nos bezerros dos dois grupos estudados. Também não foi evidenciada diferença significativa na ocorrência de partos distócicos, de assistência à ingestão do colostro, de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) e de enfermidades do nascimento à desmama entre os bezerros dos grupos FIV e IA. O peso ao nascimento, a forma de ingestão do colostro e a ocorrência de distocia não foram correlacionados com a FTIP em nenhum dos grupos estudados. Portanto, nas condições estudadas a forma de concepção, FIV ou IA, não influenciou a sanidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman, e nem interferiu na aquisição de imunidade passiva.

Palavras-chave: Morbi-mortalidade, bezerros, fertilização *in vitro*, imunidade passiva.

PIMENTA-OLIVEIRA, A. **Clinical evaluation, morbi-mortality and performance of Brahman calves derived from *in vitro* fertilization and artificial insemination.** Botucatu, 2011. 66p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Recent data ranked Brazil as the leading country in the production of *in vitro*-fertilization (IVF) bovine embryos. IVF embryos contributes to the genetic improvement, however, some reports indicate that calves derived from IVF embryos are more susceptible to neonatal disease and have higher rates of neonatal mortality than calves produced through artificial insemination (AI) or natural mating. Therefore the goal of the present study was to evaluate the influence of conception method, IVF embryos and AI, in health and development of Brahman calves derived from IVF (Group IVF, n = 80) and from AI (Group AI, n = 20) from birth to weaning. All of the calves were from same farm and received colostrum within 6 hours of birth. Blood samples were obtained from calves at 24 hours of life to determine the activity gammaglutamyltransferase (GGT) and gammaglobulin and serum total protein (PT) concentration to evaluate passive transfer of maternal immunity. Gestation period and birth weight were significantly higher in calves from IVF group. However, there was no statistically difference in the weaning weight calves in both groups. The occurrence of dystocia, to assistance to provide colostrums, passive transfer of maternal immunity and of diseases from birth to weaning was not significantly different in the two groups. No correlation was observed among birth weight, the form of colostrum ingestion and dystocia occurrence, and passive immunity failure in both groups. Therefore, under study conditions the conception method, IVF or AI, did not influence the health and performance of Brahman calves, and not interfere with the acquisition of passive immunity.

Keywords: Morbi-mortality, calves, *in vitro* fertilization, passive immunity.

Capítulo I

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, e apresenta-se em posição de destaque na produção mundial de embriões, particularmente pela expansão no uso da fertilização *in vitro* (FIV) de embriões (Martins, 2010). Na espécie bovina, a técnica de produção *in vitro* de embriões (PIV), associada à coleta de oócitos a partir da punção folicular guiada por ultrassom (*ovum pick up* – OPU), tem sido utilizada como instrumento importante para exploração maximizada do potencial reprodutivo dos rebanhos, diminuindo o intervalo entre gerações e acelerando o melhoramento genético animal (Varago et al., 2008).

A PIV contribui para o melhoramento genético e para o aumento do potencial de exploração zootécnico em menor período de tempo (Garcia et al., 2004), sendo uma importante biotécnica associada ao aumento da produtividade (Varago et al., 2008). Atribui-se à esta técnica maiores taxas de morte embrionária, padrões anormais de crescimento fetal, elevação anormal do peso ao nascimento dos bezerros, prolongamento da gestação, abortamentos, partos prematuros, aumento de anormalidades genéticas e altos índices de mortalidade neonatal (Peixer et al., 2000; Numabe et al., 2001; Prestes, 2005). Esta última pode ser atribuída à distocia a qual pode causar asfixia e maior latência para primeira mamada, interferindo negativamente na absorção de imunoglobulinas maternas, provenientes do colostro (Perino & Wittum, 1995). A distocia está fortemente associada com o aumento da morbidade e mortalidade de bezerros neonatos, além de ter impacto negativo no desenvolvimento destes bezerros do nascimento à desmama (Lombard et al., 2007).

Bezerros que falham em absorver os anticorpos derivados da mãe são na maioria hipogamaglobulinêmicos, tornando-se susceptíveis a doenças neonatais com consequentes prejuízos ao desempenho animal e elevados índices de mortalidade (Feitosa et al., 2001a). As primeiras 24 horas de vida representam o período de maior importância para o reconhecimento de situações que poderão gerar futuros problemas de saúde no neonato, sendo

que intervenções oportunas nesta fase podem minimizar ou prevenir futuras consequências negativas à higidez e à própria produtividade destes animais (Feitosa et al., 2001a).

O objetivo deste estudo foi comparar a influência das formas de concepção, FIV e Inseminação Artificial (IA), em relação à:

- duração da gestação
 - tipo de parto
 - peso ao nascimento
 - forma de ingestão do colostro (direta ou indireta)
 - morbi-mortalidade
 - desenvolvimento do bezerro
 - transferência de imunidade passiva
-

2. REVISÃO DE LITERATURA

A pecuária de corte representa uma das mais importantes atividades do agronegócio brasileiro, sendo responsável pelo abastecimento do mercado interno e por exportações de produtos primários e derivados (Oliveira Filho, 2006). O rebanho nacional de bovinos de corte possui aproximadamente 200 milhões de animais, representado por diversas raças. Dentre elas, destacam-se os animais da raça Brahman (*Bos indicus*). Importada inicialmente dos Estados Unidos, Argentina, Colômbia e Paraguai no início da década de 90, é proveniente do cruzamento das raças Nelore, Gir, Guzerá e Krishna Valley. A raça Brahman é considerada, entre as raças de origem zebuína, a segunda maior em número de animais criados no Brasil (Lemos, 2006), sendo a raça que mais cresceu nos últimos cinco anos (ACBB, 2010). O Brahman é considerado um animal adaptado ao clima tropical e bastante resistente ao estresse provocado pelo calor (Hammond et al., 1996), com grande habilidade materna favorecida pela docilidade da raça, aumentando assim a taxa de sobrevivência de seus produtos (Garbellini, 2008).

O Brasil é o maior produtor mundial de embriões bovinos de FIV. No ano de 2006, foram transferidos para fêmeas receptoras 196.663 embriões produzidos por fecundação in vitro no Brasil, sendo que 183.481 embriões foram provenientes de raças de corte (Martins, 2010), aparecendo em posição de destaque com cerca de 50% do total de embriões produzidos mundialmente (Varago et al., 2008). Em parte, o aumento da PIV se deve à composição do rebanho bovino brasileiro ser predominantemente de raças zebuínas, conhecidas pela grande produção de oócitos, facilitando assim a aspiração folicular e, conseqüentemente, a produção de embriões (Nasser et al., 2008). Além do incremento da produtividade na pecuária, essa biotecnologia permite o melhor aproveitamento do potencial genético das fêmeas consideradas superiores (Garcia et al., 2004), ao aumentar o número de descendentes de uma única fêmea, acelerando o avanço do melhoramento genético (Kruip et al., 2000; Rérat et al., 2005).

Contudo, há relatos na literatura de problemas associados à FIV como prolongamento da gestação, aumento de distocias, aumento de mortalidade

pré-natal, do peso corpóreo ao nascimento e alongamento dos ossos metacarpos e metatarsos, os quais integram a “Síndrome da Cria Gigante” (Young et al., 1998, Prestes, 2005; Takahashi et al., 2005). O aumento da incidência destes distúrbios pode estar relacionado ao co-cultivo das células da granulosa ou com altas concentrações de soro no meio de cultivo *in vitro* do embrião (Numabe et al., 2000; Galli et al., 2001).

A morte embrionária em fetos oriundos de FIV pode ser causada pela diminuição do desenvolvimento de placentomas, a qual é responsável pelo retardo no crescimento até os 60 dias de gestação, visto que os embriões produzidos *in vitro* são significativamente menores que os produzidos *in vivo*, neste período de gestação. A diminuição do número de cotilédones diminui a troca materno-fetal, resultando em subnutrição e morte do feto ao redor dos 60 dias de gestação. Após os 70 dias de gestação parece haver crescimento compensatório do feto, de maneira que, no final da gestação e ao nascimento, este apresenta peso acima do normal em relação aos fetos originados de embriões produzidos *in vivo* (Prestes & Landim-Alvarenga, 2006). Farin & Farin (1995) observaram que, aos sete meses de gestação, o número de placentomas foi significativamente menor em relação ao peso do feto em produtos originários de FIV. O aumento da morbidade e mortalidade de fetos derivados de PIV se deve à disponibilidade de nutrientes e de trocas gasosas ser limitada no final da gestação (Walker et al., 1992).

Há aumento significativo do peso corporal, circunferência cardíaca, tamanho dos ossos (metacarpos e metatarsos) e peso cardíaco em fetos derivados de embriões produzidos *in vitro* em comparação aos produzidos *in vivo*. O aumento do peso corporal pode ser resultante da maior densidade óssea, massa muscular, deposição de gordura ou de alguma combinação destes fatores. Alterações na concentração dos fatores de crescimento no meio de cultura ou na expressão dos receptores dos fatores de crescimento nos embriões produzidos *in vitro* podem contribuir para a diferença do peso fetal (Farin & Farin, 1995). Segundo Lazzari (2002), a cultura *in vitro* de embriões na presença de altos níveis de proteínas altera a cinética do desenvolvimento

embrionário, a expressão de importantes genes, e finalmente, o peso dos bezerros ao nascimento em comparação com embriões produzidos *in vivo*.

Sinclair et al. (1994) relataram que em comparação aos bezerros produzidos através da IA, os bezerros produzidos através da FIV foram significativamente mais pesados ao nascimento, apresentaram maior taxa de crescimento e maior rendimento de carcaça aos sete meses de idade. O peso ao nascimento e a duração da gestação dos bezerros nascidos após transferência de embriões *in vitro* foi maior que a dos nascidos após transferência de embriões *in vivo* (Numabe et al., 2001). Aumento significativo de nove dias na duração da gestação foi observado nos bezerros nascidos através de FIV em relação àqueles nascidos por inseminação artificial (Yang et al., 2001). O peso do bezerro ao nascer merece atenção, pois se apresenta como característica bastante ligada ao seu vigor e sobrevivência, sendo apontado como um dos fatores de maior importância sobre a mortalidade até 24 horas de vida (Schmidek, 2004). Bezerros originados de FIV foram sete quilos mais pesados ao nascimento em comparação aos bezerros de IA. Este fato, aliado à grande quantidade de receptoras usadas para FIV não possuírem características típicas do pré-parto, pode resultar em partos distócicos, na necessidade de intervenções cirúrgicas (cesarianas) e na ocorrência de natimortos (Prestes, 2005).

Behboodi et al. (1995) observaram maiores índices de distocias durante o parto de bezerros de FIV (62%) do que naqueles concebidos por IA (10%). As intensas e prolongadas contrações durante o parto, a incapacidade em respirar e a ocorrência de traumas durante o tracionamento obstétrico ocasionam graves desequilíbrios ácido-básicos nos bezerros nascidos de partos distócicos (Rice, 1994). A asfixia fetal, principal sequela da distocia, é decorrente de oclusão mecânica ou ruptura prematura do cordão umbilical dentro da pelve materna, sendo responsável pela maioria dos óbitos de bezerros ao nascimento (Benesi, 2004). Em estudo desenvolvido em bezerros submetidos experimentalmente à asfixia durante o parto, observou-se que quatro minutos de anóxia foram suficientes para retardar o reflexo de correção da cabeça em 20 minutos, e os animais levaram mais de oito horas para ficar

em estação e mamar. Neste mesmo estudo, períodos de anóxia entre seis e oito minutos foram fatais (Dufty & Sloss, 1977). Entretanto, segundo Vestweber (1997) bezerros que não vieram a óbito imediatamente após este período de anóxia, foram incapazes de sobreviver ao período neonatal. Bezerros nascidos de vacas que sofreram distocia tiveram risco de morte cinco vezes maior, durante a primeira semana de vida, que os nascidos sem dificuldade (Azzam et al., 1993).

O aumento dos casos de distocia, devido à incompatibilidade entre o tamanho do bezerro, que é maior em bezerros de FIV (Farin & Farin, 1995), e o tamanho das receptoras (Lombard et al., 2007) e, o aumento do tempo de latência para primeira mamada, interferem negativamente na absorção de imunoglobulinas colostrais pelos bezerros nascidos de FIV (Ribeiro et al., 2006). Bezerros que demoram mais tempo para mamar após o nascimento apresentam maior estresse, com níveis mais altos de cortisol plasmático e menor aquisição de anticorpos (Ribeiro et al., 2006). Como descrito anteriormente, distocias prolongadas e difíceis podem causar hipóxia fetal, edema encefálico e da língua (White, 1993; Perino & Wittum, 1995) e redução da atividade física (Santos, 2001), o que os levam a mamar mais tardiamente, ocasionando redução na absorção de anticorpos (White, 1993; Perino & Wittum, 1995; Santos, 2001). Portanto, a ocorrência de distocia está fortemente associada com o aumento da morbidade e mortalidade de bezerros neonatos, além de ter impacto negativo no desenvolvimento destes bezerros do nascimento à desmama (Lombard et al., 2007). Distocia aumenta a probabilidade de ocorrência de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) (Filteau et al., 2003) e está associada as baixas concentrações séricas de IgG em bezerros de corte (Odde, 1988).

Entre os principais fatores que influenciam a taxa de mortalidade em bezerros neonatos destacam-se, além do sistema de criação, da taxa de lotação, da tecnificação da produção, enfermidades entéricas, pulmonares e umbilicais, principalmente a FTIP (Barros et al., 1965/1966; Bruning-Fann & Kaneene; 1992; Silva et al., 2001; Radostits et al., 2002; Oliveira Filho, 2006).

A proteção transferida da mãe para o filho via placenta, colostro, ou por ambos, recebe a denominação de imunidade passiva, não tendo participação do sistema de defesa do recém-nascido (Argenzio, 1984). A placenta dos bovinos é do tipo sindesmocorial, ou seja, o epitélio coriônico fica em contato direto com os tecidos uterinos, impossibilitando totalmente a passagem transplacentária das moléculas de imunoglobulinas, fazendo com que os neonatos desta espécie sejam dependentes dos anticorpos recebidos através do colostro (Tizard, 2004). A imunização passiva, através da absorção de imunoglobulinas presentes no colostro é o processo mais significativo para transferir uma proteção imunitária eficaz, nas fases iniciais da vida do bezerro, visto que não ocorre efetiva transferência transplacentária de imunoglobulinas durante a gestação, fazendo com que esses neonatos nasçam hipo ou agamaglobulinêmicos (Robison et al., 1988). Os anticorpos de origem materna são necessários para a sobrevivência do neonato uma vez que seu sistema imune é imaturo, necessitando ainda de um longo tempo para desenvolver respostas imunes eficientes e específicas a desafios externos (Borges, 1997).

As proteínas do colostro são absorvidas intactas, conseguindo passar sem alterações estruturais para a corrente circulatória dos bezerros durante as primeiras horas de vida (Vaz et al., 2004). Os neonatos absorvem as imunoglobulinas presentes no colostro de maneira não seletiva, já que a maior parte das macromoléculas fornecidas para os bezerros nas primeiras 24 horas de vida sofre pinocitose, através das células epiteliais do jejuno (Stanley & Bush, 1985). O colostro em função do tempo perde sua capacidade imunizante, pois a concentração de imunoglobulinas diminui com o tempo decorrido desde o parto até a primeira mamada ou ordenha (Cabello & Levieux, 1978), assim como o bezerro também em função do tempo, perde rapidamente a capacidade de absorver imunoglobulinas por meio do seu epitélio intestinal (Feitosa, 1999). A capacidade de absorção é de 100% imediatamente após o nascimento, em média de 50% às 13 h e praticamente nula em torno de 24 h de vida (Cabello & Levieux, 1978).

Dentre os componentes protéicos do colostro, as imunoglobulinas são indispensáveis à defesa orgânica do animal até o momento em que seu próprio

sistema imunológico tenha condições de fornecer uma proteção satisfatória (White, 1993). Existem três tipos de imunoglobulinas presentes no colostro: IgG (70 a 80%), IgM (10 a 15%) e IgA (10 a 15%). Cada uma tem uma função: a IgG tem como função principal a identificação e destruição de possíveis patógenos, a IgM atua como a primeira defesa em casos de septicemia e a IgA protege as mucosas, ligando-se à parede intestinal e evitando a adesão de possíveis patógenos (Tizard, 2004). Portanto, o efeito da IgA é limitado ao período de consumo do colostro, visto que ela atua na parede externa do intestino (Peres, 2000; Tizard, 2004).

Além da transferência de imunidade passiva o colostro também tem função nutricional, pois logo após o parto as reservas energéticas do recém-nascido são limitadas (Campana & Baumrucker, 1995). O colostro é uma importante fonte de proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e sais minerais, elementos que participam da nutrição e regulação térmica do recém-nascido (Machado Neto, 2001), e também contém hormônios, fatores de crescimento e enzimas as quais estão associadas à maturação do trato digestivo e outros sistemas (Odle et al., 1996). Portanto, a manutenção da homeostasia torna-se dependente da quantidade e da qualidade nutricional do colostro ingerido (Kuhne et al., 2000).

Nos neonatos alguns fatores influenciam o nível de imunoglobulinas séricas. Dentre esses fatores que afetam a transferência da imunidade passiva podemos citar a idade da mãe, o manejo, a temperatura ambiental, a ingestão insuficiente de colostro pela condição do nascimento, negligência ou rejeição materna, conformação inadequada do úbere e/ou tetos e, pela absorção insuficiente por ingestão tardia de colostro ou interferência na absorção (Feitosa, 1999). O importante é que a primeira dose de colostro seja fornecida nas primeiras seis horas de vida, tendo esta administração um efeito benéfico não só para saúde do neonato, como também para o seu futuro desenvolvimento corporal (Nocek et al., 1984).

Níveis adequados de imunoglobulinas passivas modulam a resposta imune através de mecanismos que inibem o crescimento precoce das células produtoras de anticorpos (Baracat et al., 1997). Os animais que apresentam

altas concentrações de anticorpos séricos podem retardar a produção endógena de imunoglobulinas (Daniele et al., 1994), assim como os que apresentam baixos teores, antecipam sua produção em resposta aos desafios do ambiente (Pauletti et al., 2002). A síntese ativa de imunoglobulinas pode ser um processo mais tardio nos zebuínos do que nos taurinos, não significando necessariamente que os zebuínos estejam mais sujeitos à infecção nos primeiros meses de vida (Costa et al., 2008).

Segundo Besser & Gay (1994) bezerros nascidos de partos distócicos têm um alto risco de falhar em receber quantidade adequada de colostro através de mamada natural. Nos bezerros com asfixia há maior frequência de doenças, nas três primeiras semanas de vida, decorrentes do retardamento e da diminuição da quantidade de colostro ingerida, com consequentes menores níveis séricos de imunoglobulinas (Benesi, 2004). Portanto, bezerros que sofreram dificuldade para nascer requerem atenção especial para assegurar que tenham uma adequada transferência passiva de anticorpos maternos (Beam et al., 2009).

A prevenção da FTIP deve ser feita pelo fornecimento de quatro litros de colostro (10 a 15% PV), distribuídos em duas mamadas, sendo a primeira dose fornecida dentro das seis primeiras horas de vida e o restante dentro das primeiras 12 horas após o nascimento, podendo-se estender seu fornecimento por mais dias, dependendo do manejo adotado pela propriedade (Nocek et al., 1984). O ideal é que o colostro seja fornecido permitindo que o neonato mame diretamente na mãe, podendo-se complementar o volume com alimentação artificial (mamadeira ou “biberão”) nos neonatos de alto risco, ou em último caso, fornecer por sonda esofágica (Benesi, 2004). Bezerros amamentados pelas mães durante período de secreção de colostro apresentaram maiores níveis de imunoglobulinas séricas (Paranhos da Costa et al., 2001) e, menor incidência de diarreias (Nocek et al., 1984), do que bezerros que receberam o colostro em baldes ou mamadeiras.

Stott et al. (1980) obtiveram maiores concentrações de IgG no soro de bezerros que permaneciam e mamavam diretamente em suas mães do que nos alimentados com colostro no balde e sugeriram a existência de um fator

lável no colostro fresco e/ou que o estímulo da amamentação poderia acelerar ou aumentar a atividade pinocítica das células intestinais e a taxa de transporte das imunoglobulinas para a circulação sanguínea. Além disso, levantaram a hipótese de que haveria maior concentração de imunoglobulinas nas cisternas das glândulas mamárias, fazendo com que o colostro ingerido diretamente nas vacas fosse mais rico em imunoglobulinas. Segundo Besser & Gay (1994), há um efeito benéfico da presença da mãe, aumentando a eficiência de absorção de imunoglobulinas do colostro pelos bezerros.

Em contrapartida, Paiva et al. (2006) sugeriram que a administração artificial de colostro é adequada para fornecer imunidade passiva, próxima àquela provida diretamente aos bezerros pelas suas mães. O fato do bezerro mamar diretamente na mãe não garante melhor transferência de imunidade passiva, devendo-se levar também em consideração a quantidade de colostro ingerida (Besser et al., 1985). Estima-se que a porcentagem de bezerros que não consomem colostro em quantidade suficiente, quando mamam diretamente na vaca, varie entre 25 e 40% (Peres, 2000). Em raças leiteiras é comum optar-se por separar o bezerro da mãe e fornecer o colostro manualmente com o objetivo de assegurar adequada ingestão de colostro, visto que nestes animais as taxas de deficiência imunológica com amamentação natural são altas (Benesi, 2004). Morin et al. (1997) sugeriram o fornecimento de colostro artificialmente nas primeiras horas de vida para suprir falhas quanto à concentração e quantidade total de imunoglobulinas ingeridas do colostro. O fornecimento artificial de colostro, praticado no tempo correto e em quantidades adequadas, assegura a higidez do recém-nascido (Machado Neto et al., 2004).

As FTIP colostrais podem ocorrer mesmo em criações onde sejam adotadas práticas de manejo e de fornecimento de colostro adequadas, visto que o parto pode ocorrer durante a noite, não sendo acompanhado, podendo o bezerro não ingerir volume adequado ou ingerir tardiamente o colostro (Benesi, 2004). Bezerros que falham em absorver os anticorpos da mãe são na maioria hipogamaglobulinêmicos, tornando-se susceptíveis a doenças neonatais com consequentes prejuízos ao desempenho animal e elevados índices de mortalidade (Ramim et al., 1996; Feitosa et al., 2001a). A não ingestão ou a

ingestão insuficiente de colostro acarretará maior susceptibilidade às doenças e, nos casos em que não ocorra o óbito, a enfermidade retardará o seu desenvolvimento (Bielecka, 1988; Odde, 1988; Chaturvedi et al., 1990). A sobrevivência de bezerros neonatos está fortemente associada à adequada transferência de imunoglobulinas por meio da ingestão do colostro ao nascimento e maiores concentrações destas proteínas acarretam proteção contra doenças infecciosas (Feitosa et al., 2001a). Segundo Tizard (2004), a primeira causa para FTIP é a produção insuficiente de colostro e ou de má qualidade pela mãe (falha de produção). Em segundo lugar em importância, o consumo inadequado de colostro pelo neonato, mesmo havendo colostro suficiente (falha de ingestão) e em terceiro lugar, pode haver uma falha de absorção intestinal, mesmo com um consumo adequado de colostro (falha de absorção).

Além da latência para a primeira mamada, o nível de imunidade passiva colostral obtido é dependente de sua qualidade, de seu volume e da forma de sua administração (Besser et al., 1991). A qualidade do colostro está diretamente relacionada à concentração de imunoglobulinas presentes em sua composição, o que depende da idade da mãe, da concentração de anticorpos séricos e do estado nutricional materno (Langholz et al., 1987). Quanto mais alta a densidade específica do colostro, maior o teor de imunoglobulinas e melhor a capacidade do colostro em proteger o neonato contra doenças (Rebhum, 2000). Assim, é interessante que se faça uma estimativa dos teores de imunoglobulinas no colostro utilizando-se um colostrômetro, o qual fornece rapidamente indicação da qualidade do colostro por determinação da densidade específica. Em geral, quando a densidade é menor que 1,050 está associada a colostro com baixa concentração de imunoglobulinas (Feitosa, 1999). Segundo Filteau et al. (2003), a FTIP deve ser considerada um dos fatores de risco associados à morbidade e mortalidade de bezerros e a longo tempo diminuir a produtividade (Beam et al., 2009). A inadequada transferência de imunidade passiva torna o neonato um alvo fácil para infecções bacterianas e virais, sendo que a ocorrência das enfermidades dependerá do balanço entre o desafio provocado pelo meio ambiente e a imunidade passiva adquirida (Fisher, 1980). A dificuldade do parto causa estresse para o bezerro recém-

nascido, o que diminui a resistência aos patógenos, devido à uma combinação da redução do vigor dos bezerros e do atraso da ingestão de colostro. Além disso, os bezerros recém-nascidos que necessitam de assistência durante o parto podem permanecer fracos por longos períodos após o nascimento, e assim tornar-se mais expostos a patógenos do que bezerros que levantam logo após o nascimento (Lorino et al., 2005).

As enfermidades mais comuns dentro dos primeiros meses de vida são: as diarréias, as broncopneumonias, as inflamações umbilicais e suas complicações e, as septicemias (Benesi, 1993), as quais juntamente com a tristeza parasitária bovina acarretam maiores gastos com medicação e perdas por mortalidade (Botteon et al., 2008).

A diarréia neonatal dos bezerros é uma doença multifatorial (Oliveira Filho et al., 2007) ou um complexo patofisiológico, resultante da interação entre o bezerro, seu ambiente, a nutrição recebida e os agentes infecciosos (Benesi, 2004). Essa síndrome é caracterizada por alterações da função gastrointestinal, cujo principal sintoma é a diarréia, sendo causa de grandes prejuízos econômicos, pela mortalidade provocada entre os animais afetados, pelos tratamentos frustrados e particularmente, pela perda de peso e desenvolvimento retardado dos bezerros que a apresentam (Benesi, 2004). Problemas de diarréia em bezerro, que ocorrem na primeira semana de vida, são geralmente resultado de infecções logo após o nascimento (McGuirk, 1997). Os distúrbios entéricos são responsáveis por cerca de 2% da mortalidade em bezerros de corte (Mota et al., 2000).

Segundo Blom (1982), há estreita relação entre os níveis de imunoglobulinas, a incidência de enterites e mortalidade, visto que o número de animais que apresentam diarréia e problemas respiratórios é maior nos bezerros com deficiência de imunoglobulinas. Fisher (1980) relacionou os baixos níveis séricos das diferentes imunoglobulinas com as enfermidades que os animais apresentavam, afirmando que os animais acometidos por diarréia demonstravam baixas taxas de IgG e aqueles que morriam de septicemia apresentavam baixos níveis séricos de IgM. O fornecimento de colostro excedente adicionado ao leite, do segundo ao 10º dia de vida, em um grupo de

bezerros que mamaram o colostro no primeiro dia de vida, confere proteção ao recém-nascido contra diarreia (Gutzwiller, 2002). Estes dados corroboram com os estudos de Berge et al. (2009), que constataram que a suplementação com colostro durante as duas primeiras semanas de vida foi efetiva em reduzir a ocorrência de diarreia e o gasto com antimicrobianos.

Juntamente com a tristeza parasitária bovina (TPB), as diarreias são apontadas como as principais causas de mortalidade em bezerros criados em sistemas intensivos de produção (Feitosa et al., 2001a; Silva et al., 2001). O complexo TPB, formado pela babesiose e anaplasnose, ocasiona graves perdas na pecuária, decorrentes dos altos índices de mortalidade principalmente em bezerros, atraso no desenvolvimento ponderal, além de gastos adicionais com medicamentos. Segundo Gonçalves et al. (2005) a anaplasnose deve fazer parte da lista de diagnósticos diferenciais nas condições em que são observados anemia ou icterícia, apatia e decúbito em bezerros neonatos.

As broncopneumonias apresentam menor incidência que as diarreias, no entanto não têm menor importância, visto que os animais acometidos, quando inadequadamente tratados, apresentam um prognóstico reservado e os sobreviventes poderão apresentar uma diminuição no crescimento (Williams et al., 1975). Segundo Blum et al. (1996), a broncopneumonia representa problema econômico principalmente nos bezerros, devido ao custo com tratamento e problemas decorrentes do comprometimento do desenvolvimento e da produção futura destes animais. No Brasil, registraram-se índices próximos a 12% (Barros et al., 1965/66; Gonçalves et al., 2000). Davidson et al. (1981) observaram que animais que morreram de broncopneumonia apresentavam valores de IgG, aos três dias de vida, muito inferiores aos dos animais que sobreviveram (1.287 mg/dL versus 2.698 mg/dL). Já Moraes et al. (2000) não encontraram diferença significativa nos valores de IgG entre os animais saudáveis e os com problemas respiratórios.

As inflamações representam o problema umbilical mais frequente nos bezerros, decorrente em geral da infecção durante ou imediatamente após o nascimento. São responsáveis por maiores perdas econômicas, determinando

complicações que podem provocar desde menor ganho de peso até a morte do animal enfermo, além dos gastos com honorários profissionais e tratamentos (Benesi, 2004). As onfalopatias têm como causas principais, fatores ambientais, higiênicos, bacterianos, congênitos e traumáticos os quais isolados ou em associação provocam processos inflamatórios e/ou infecciosos nas estruturas umbilicais, sendo responsáveis por aproximadamente 10% da mortalidade em animais de até oito meses de idade (Radostits et al., 2002).

Segundo Riet-Correa (2007), as bactérias podem ascender a partir dos vasos umbilicais ou do útero causando septicemia aguda ou crônica com comprometimento articular, abscessos hepáticos, e até endocardites e meningites. As infecções do umbigo e de suas estruturas estão diretamente relacionadas ao nível de contaminação do ambiente em que o bezerro nasce e permanece durante os primeiros dias de vida (Dias, 2002) e ao tratamento tardio do umbigo (Miessa et al., 2002). A elevada incidência de onfalopatias observada nos bezerros concebidos por FIV, não pode ser explicada somente pela hip imunoglobulinemia, uma vez que certas afecções têm sido frequentemente observadas nos animais produtos desta técnica, incluindo alterações de parâmetros bioquímicos, falhas no desenvolvimento das membranas cório alantóide e vasos sanguíneos, alterações na morfologia dos placentomas e contato materno fetal (Rodrigues et al., 2010), sendo estas alterações causadas possivelmente por uma falha no padrão de impressão e expressão de genes que regulam tais mecanismos (Farin et al., 2006). A ocorrência de onfalopatias pode apresentar origem multifatorial em animais concebidos por FIV devido a defeitos congênitos, retração do cordão umbilical, impressão e expressão gênica, devendo as falhas na transferência de imunidade passiva ser investigadas a partir do nascimento e comparadas entre as populações sadias e acometidas, porém esta hipótese necessita de comprovação científica (Rodrigues et al., 2010).

A avaliação da imunidade passiva não pode ser feita única e simplesmente pelo exame físico do animal, devendo-se ser utilizados, sempre que possível exames laboratoriais. No entanto, grande é a variabilidade dos

valores de alguns componentes sanguíneos adotados por diferentes autores para estabelecer a ocorrência ou não de FTIP (Feitosa, et al., 2010).

O conceito de FTIP tem sido amplamente usado para descrever situações em que o neonato não absorve nível adequado de imunoglobulinas colostrais, visto que as imunoglobulinas representam o maior constituinte do colostro e o mais estudado. O risco do bezerro contrair doença infecciosa é uma questão complexa, na qual a concentração de imunoglobulinas séricas é um simples fator (Benesi, 2004). O nível de imunoglobulinas séricas em bezerros após receberem o colostro é muito variável (Pauletti et al., 2002). A grande variabilidade nas concentrações de imunoglobulinas séricas dificulta a determinação da FTIP (Vaz et al., 2004). Em raças bovinas com aptidão leiteira são relatados índices de falha de amamentação em torno de 30%, devido à conformação do aparelho mamário e da idade da mãe, vigor e peso ao nascer do bezerro. Já, nas raças de corte, problemas deste tipo parecem ser mais raros (Edwards et al., 1982).

A eficiência ou a falência de transferência de imunidade passiva colostrar nos neonatos podem ser diagnosticadas através de estimativa quantitativa ou qualitativa, direta ou indireta, dos teores de imunoglobulinas no sangue/soro do neonato ou no colostro, já que as concentrações séricas de imunoglobulinas estão altamente correlacionadas com as quantidades ingeridas na primeira alimentação (Benesi, 2004). A avaliação dos animais, quanto ao sucesso ou não na obtenção da imunidade passiva, tem como base a determinação direta ou indireta da concentração das imunoglobulinas circulantes no soro dos recém-nascidos (Feitosa et al., 2010).

Existem vários métodos para aferir a transferência de anticorpos maternos nos bezerros, os quais se destacam a dosagem da concentração de proteína sérica total, separação eletroforética das imunoglobulinas (Simões et al., 2005), avaliação das taxas de imunoglobulinas pela imunodifusão radial, turbidimetria pelo sulfato de zinco e a dosagem da atividade sérica da gamaglutamiltransferase (GGT) (Feitosa et al., 2001a,b). O *status* da imunidade passiva às 24 horas após o parto é um importante determinante da

saúde antes e após a desmama e está indiretamente associado ao crescimento dos bezerros durante os mesmos períodos (Perino & Wittum, 1995).

A taxa de proteína total no soro medida por refratometria fornece medida indireta da quantidade de imunoglobulinas, havendo correlação confiável entre o teor de proteína total e a taxa de imunoglobulina total e, valores abaixo de 4,5 a 4,8 g/dL (Benesi, 2004) ou 5,5 g/dL (Heath, 1992) são indicadores de FTIP. A concentração máxima de proteína total é observada na 24^a hora após o nascimento (Borges et al., 2001), havendo decréscimo progressivo até os 30 dias de idade para os animais que ingeriram colostro (Borges, 1997; Borges et al., 2001).

Através da eletroforese pode-se determinar as concentrações séricas das frações protéicas albumina, alfa1, alfa2, beta e gamaglobulinas (Tizard, 2004), as quais são bons indicadores para se verificar a transferência de imunidade passiva, visto que as variações das proteínas séricas obedecem a um padrão fisiológico ao longo dos quatro primeiros meses de vida (Costa et al., 2008). A eletroforese apesar de não detectar classes específicas de imunoglobulinas possui tecnologia nacional e custo relativamente pequeno, além de apresentar resultados consistentes em tempo máximo de duas horas após o início do seu processamento (Feitosa et al., 2001b). A eletroforese é um método valioso para determinação quantitativa das proteínas séricas, sendo de particular importância para avaliação dos níveis de gamaglobulinas presentes no soro (Borges, 1997). Os bezerros neonatos apresentam teores praticamente insignificantes da fração gamaglobulina antes da ingestão de colostro (Borges et al., 2001). Fagliari et al., (1996), ao realizarem o fracionamento eletroforético do soro de 140 bezerros, do primeiro ao sexto dia de vida, constataram baixa concentração sérica de gamaglobulina nas seis primeiras horas de vida ($0,56 \pm 0,27$ g/dL), havendo intensa elevação após a ingestão do colostro, alcançando nível máximo 24 a 30 h após o nascimento ($2,08 \pm 0,40$ g/dL). Valores abaixo de 0,5 g/dL (Radostits et al., 2002) ou 1,5 g/dL (Biswal et al., 1993) são indicadores de FTIP em bezerros.

A imunodifusão radial simples em gel de ágar é um teste quantitativo que mede diretamente a concentração sérica de IgG e IgM, sendo utilizado em

pesquisas devido ao tempo longo para sua realização (Benesi, 2004). A prova da turbidimetria pelo sulfato de zinco é um teste qualitativo indireto que, além de ser de fácil execução e baixo custo, também fornece resultados precoces da concentração sérica de IgG baseados na proteína total após a absorção de colostro (Benesi, 2004).

Da mesma forma a avaliação da atividade sérica de GGT é de rápida execução, menos onerosa que outras técnicas e produz bons resultados para o diagnóstico de FTIP (Feitosa et al., 2001b), visto que o colostro dos ruminantes tem elevadas taxas desta enzima que é absorvida para a circulação do neonato. Pode-se considerar a determinação da atividade sérica de GGT como um exame de laboratório alternativo na identificação indireta de bezerros gamaglobulinêmicos, por falha de transferência de imunoglobulinas colostrais (Fagliari et al., 1996).

Taxas séricas de GGT menores que 50 UI/L (Benesi, 2004) ou que 200 UI/L (Perino et al., 1993), indicam FTIP colostrar. A atividade sérica da GGT em neonatos que mamaram adequadamente o colostro é muito maior que os valores encontrados em animais adultos ou naqueles que não receberam o colostro, havendo uma correlação positiva entre a taxa de GGT e uma proteção passiva colostrar satisfatória (Thompson & Pauli, 1981). A atividade sérica da GGT sofre variação em decorrência do tipo de parto em bezerros com 24 horas de vida. Valores menores da atividade de GGT são encontrados em bezerros nascidos de partos distócicos e podem ser atribuídos ao fato de não terem absorvido adequadamente as imunoglobulinas presentes no colostro. O trabalho de parto relativamente demorado (entre quatro e oito horas) e/ou administração de colostro por mamadeira podem determinar falha parcial na transferência de imunidade passiva (Gasparelli, et al., 2008).

Recentemente Feitosa et al. (2010), propuseram critérios de classificação, visando o diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva, devido a inexistência de valores de referência para diagnóstico de FTIP em bezerros, em nosso país. Segundo estes autores, valores de PT entre 5,0 e 6,0 g/dL, gamaglobulina entre 1,0 e 1,5 g/dL, GGT entre 100 e 300 UI/L às 24 e 48 horas de vida indicam transferência de imunidade passiva de

razoável à boa em bezerros. No entanto, a utilização de um valor pontual para qualquer componente sanguíneo, visando estabelecer se um bezerro recém-nascido é ou não imunodeficiente deve ser objeto de cautela. Deve-se levar em consideração além das concentrações (ou indicadores indiretos) das imunoglobulinas séricas, outros aspectos como a intensidade do desafio antigênico ao qual os animais serão submetidos e a existência de imunoglobulinas específicas em quantidade satisfatória na circulação sanguínea e nas mucosas, contra os microorganismos de determinado ambiente (Feitosa et al., 2010). Portanto, identificar fatores que contribuem para a FTIP, bem como os animais hipogamaglobulinêmicos permitem ao clínico maiores chances de intervenção nestes casos, minimizando os prejuízos ocasionados pelo menor desempenho produtivo e morte de neonatos (Feitosa et al., 2001b).

Capítulo I I

Trabalho a ser enviado para a revista Pesquisa Veterinária Brasileira

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA MORBI-MORTALIDADE E DESENVOLVIMENTO DE BEZERROS BRAHMAN PRODUZIDOS *IN VITRO* E POR INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.

[Morbi-mortality and performance evaluation of Brahman calves derived from *in vitro* production and artificial insemination]

RESUMO

A influência da forma de concepção, produção *in vitro* de embriões (PIV) e inseminação artificial (IA), na sanidade e desenvolvimento de bezerros Brahman nascidos por PIV (Grupo PIV, n = 80) e IA (Grupo IA, n = 20) foi avaliada do nascimento à desmama. Todos os bezerros amostrados eram provenientes de uma mesma propriedade e mamaram o colostro de forma direta ou indireta até seis horas após o nascimento. Amostras sanguíneas destinadas à determinação da atividade sérica da gamaglutamiltransferase (GGT), da gamaglobulina e da concentração sérica de proteína total (PT) foram colhidas de todos os bezerros às 24 horas de vida com o objetivo de avaliar a transferência de imunidade passiva. A duração da gestação e o peso ao nascimento foram significativamente maiores nos bezerros do grupo PIV. Contudo, não foi observada diferença estatística no peso à desmama nos bezerros dos dois grupos estudados. Também não foi evidenciada diferença significativa na ocorrência de partos distócicos, da assistência à ingestão do colostro, de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) e de enfermidades do nascimento à desmama entre os bezerros dos grupos PIV e IA. O peso ao nascimento, a forma de ingestão do colostro e a ocorrência de distocia não foram correlacionados com a FTIP em nenhum dos grupos estudados. Portanto, nas condições estudadas a forma de concepção, PIV ou IA, não influenciou a sanidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman, e nem interferiu na aquisição de imunidade passiva.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Morbi-mortalidade, bezerros, produção *in vitro* de embriões, imunidade passiva.

ABSTRACT

The influence of conception method, *in vitro* production (IVP) of embryos and artificial insemination (AI), in health and development of Brahman calves derived from IVP (Group IVP, n = 80) and from AI (Group AI, n = 20) was evaluated from birth to weaning. All of the calves were from same farm and received colostrum within 6 hours of birth. Blood samples were obtained from calves at 24 hours of life to determine the activity gammaglutamyltransferase (GGT) and gammaglobulin and serum total protein (PT) concentration to evaluate passive transfer of maternal immunity. Gestation period and birth weight were significantly higher in calves from IVP group. However, there was no statistically difference in the weaning weight calves in both groups. The occurrence of dystocia, to assistance to provide colostrums, passive transfer of maternal immunity and of diseases from birth to weaning was not significantly different in the two groups. No correlation was observed among birth weight, the form of colostrum ingestion and dystocia occurrence, and passive immunity failure in both groups. Therefore, under study conditions the conception method, IVP or AI, did not influence the health and performance of Brahman calves, and not interfere with the acquisition of passive immunity.

INDEXS TERMS: Morbi-mortality, calves, *in vitro* embryo production, passive immunity.

INTRODUÇÃO

O uso da Produção *in Vitro* (PIV) de embriões bovinos no Brasil ganhou destaque nos últimos anos por proporcionar a obtenção de embriões viáveis a partir de fêmeas que não estão mais aptas a produzirem descendentes pelas técnicas convencionais e, principalmente, o aumento do potencial de exploração reprodutiva das fêmeas bovinas de genética superior e a produção de embriões em larga escala, quando comparada a outras biotecnologias, como a Inseminação Artificial (IA) (Garcia et al. 2004).

Embora a PIV de embriões contribua para o melhoramento genético e para o aumento do potencial de exploração zootécnico em menor período de

tempo (Garcia et al. 2004), frequentemente atribui-se à esta técnica maiores taxas de morte embrionária, padrões anormais de crescimento fetal, elevação anormal do peso ao nascimento dos bezerros, prolongamento da gestação, abortos, partos prematuros, aumento de anormalidades genéticas e altos índices de mortalidade neonatal (Peixer et al. 2000, Numabe et al. 2000, Prestes 2005).

Esta última pode ser atribuída à distocia a qual pode causar asfixia e maior latência para primeira mamada, interferindo negativamente na absorção de imunoglobulinas maternas, provenientes do colostro (Perino & Wittum 1995). A distocia está fortemente associada com o aumento da morbidade e mortalidade de bezerros neonatos, além de ter impacto negativo na saúde e no desenvolvimento destes bezerros do nascimento à desmama (Lombard et al. 2007). Bezerros que falham em absorver os anticorpos derivados da mãe são na maioria hipogamaglobulinêmicos, tornando-se susceptíveis a doenças neonatais com consequentes prejuízos ao desempenho animal e elevados índices de mortalidade (Feitosa et al. 2001).

Recentemente Feitosa et al. (2010) propuseram valores de referência para o diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros no Brasil, visando identificar precocemente neonatos (um a dois dias de vida) imunodeficientes. De acordo com esta classificação, são indicativos de FTIP os valores de proteína total < 5g/dL, gamaglobulina < 1g/dL e atividade sérica da GGT < 100 UI/L.

O objetivo deste estudo foi comparar a influência das formas de concepção PIV e Inseminação Artificial (IA) em relação à duração da gestação, tipo de parto, peso ao nascimento, forma de ingestão do colostro, transferência de imunidade passiva, morbi-mortalidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman.

MATERIAL E MÉTODOS

Características gerais do local do experimento

O estudo foi conduzido em uma propriedade de criação comercial de bovinos da raça Brahman Puros de Origem (*Bos indicus*), localizada (S: 23°04'34.7"/ W: 48°27'12.2") no município de Pardinho, região Centro Oeste do Estado de São Paulo, com 180 hectares de pasto formado principalmente por *Brachiaria* sp, predominando sistema semi-intensivo. O manejo reprodutivo da propriedade consistia em PIV e IA. A propriedade era supervisionada por assistência veterinária permanente, com ações sanitárias profiláticas e terapêuticas padronizadas.

Animais experimentais

Foram selecionados aleatoriamente, independentemente do sexo, 100 bezerros neonatos da raça Brahman, sendo 80 bezerros provenientes de produção *in vitro* de embriões (Grupo PIV) e 20 bezerros provenientes de inseminação artificial (Grupo IA), ao longo de uma estação de parição (seis meses). Todos os animais foram identificados individualmente ao nascimento, através de brinco e tatuagem, receberam aplicação tópica de solução de iodo a 5% para antisepsia umbilical e 200 µg/kg de peso vivo (PV) de anti-helmíntico à base de doramectina, via subcutânea. A alimentação suplementar ao pasto era fornecida no "creep-feeding", consistindo em feno triturado de capim tifton (*Cynodon dactylon*) (1% PV), silagem de milho (3% PV) e ração comercial própria para bezerro (1% PV). Os animais tinham à disposição sal mineral e água fornecidos em cochos.

Apenas integraram o estudo, os animais que ingeriram o colostro em até seis horas de vida, independente da forma de ingestão, ou seja, de forma direta (mamando na própria mãe) ou indireta (sonda esofágica ou mamadeira). Os bezerros permaneceram com as mães até a desmama (210 dias), tendo sido acompanhados durante este período com avaliações clínicas. Os animais que adoeceram foram avaliados e medicados de acordo com o diagnóstico realizado.

Foram utilizadas como receptoras de embrião vacas pluríparas, mestiças (Red Angus/Nelore e Simental/Nelore), enquanto que os bezerros do Grupo IA nasceram de vacas da raça Brahman. Um mês antes do parto as mesmas

eram transferidas para piquetes maternidade onde recebiam alimentação suplementar ao pasto no cocho, consistindo em silagem de milho (3% PV) e ração comercial de manutenção (1% PV). Os animais tinham à disposição sal mineral e água fornecidos em cochos.

As matrizes utilizadas possuíam exames de brucelose e tuberculose negativos e eram vacinadas contra rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina, campilobacteriose, leptospirose e clostridioses. As doses de sêmen utilizadas, tanto na PIV quanto na IA, eram certificadas como livres de enfermidades infecciosas.

A aspiração folicular, bem como a produção *in vitro* e transferência dos embriões foram realizadas por técnico especializado vinculado à uma única empresa de biotecnologia. A inseminação artificial foi realizada por um único inseminador.

Colheita de Amostras

Foram colhidos dados referentes à forma de concepção (PIV ou IA), duração da gestação, tipo do parto, eutócico ou distócico (tração com corrente obstétrica ou cesariana), fornecimento do colostro (forma direta ou indireta), peso ao nascimento (PN) e aos 30, 60, 90, 120 e 210 dias de idade. Os animais foram inspecionados diariamente até a desmama, sendo submetidos ao exame físico (Dirksen et al. 1993) sempre que houve evidência de alteração clínica. Foram registradas informações quanto à presença e frequência das enfermidades observadas nos bezerros. Todos os dados foram anotados em fichas individuais.

Amostras sanguíneas dos bezerros foram colhidas por venopunção da jugular externa com agulha de diâmetro 21G (Vacutainer®) e tubos sem anticoagulante (BD Vacutainer®), às 24 horas pós-nascimento. Após a observação da retração do coágulo, as amostras foram imediatamente centrifugadas e os soros resultantes foram armazenados em tubo plástico e congelados (- 20°C) até o momento do processamento dos testes para verificar a transferência de imunidade passiva. Todos os procedimentos realizados

foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, FMVZ-UNESP.

Diagnóstico da Falha de Transferência de Imunidade Passiva

O diagnóstico da FTIP foi realizado através da determinação da atividade sérica da gamaglutamiltransferase (GGT), a partir das amostras de soro colhidas, pelo método cinético colorimétrico, recomendado pela *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) utilizando-se *kit* comercial¹, segundo a técnica modificada de Szasz (1969), em analisador bioquímico automático², no comprimento de onda de 405 nm; pela separação da fração protéica gamaglobulina do soro sanguíneo utilizando o método eletroforético em filme de agarose (Celmigel[®]) corado com Negro de Amido (0,1%) em ácido acético a 5%, segundo as técnicas descritas por Naoum (1999). A leitura das frações protéicas foi realizada em “scanner” (SE-250-Celm[®]) e a concentração da proteína total (PT) foi mensurada em analisador bioquímico automático usando *kit* colorimétrico (Katal[®]), pela dosagem direta da concentração de proteínas séricas totais através do método colorimétrico³ - Biureto (Tietz 1970).

Considerou-se FTIP quando o animal apresentasse pelo menos um dos valores de PT, gamaglobulina e/ou GGT abaixo do limiar considerado como transferência de imunidade passiva razoável, ou seja, proteína total (< 5,0 g/dL), gamaglobulina (< 1,0 g/dL) e atividade sérica da GGT (< 100 UI/L) (Feitosa et al. 2010).

Análises dos Resultados

A análise das diferenças da aquisição de imunoglobulinas maternas em relação às múltiplas variáveis (forma de concepção, duração da gestação, tipo do parto, forma de fornecimento do colostro, peso ao nascimento e aos 30, 60, 90, 120 e 210 dias de idade, tipo das enfermidades que acometeram os bezerros) avaliadas foi executada respeitando os pressupostos determinados

¹ - Katal – Método cinético para a determinação da γ -Glutamyl transferase.

² - Celm – Sistema de Bioquímica Semi-Automático SB-190.

³ - Katal – Proteínas Totais.

pelos resultados, características e comportamento das variáveis de estudo, obtidas para os grupos de comparação. Utilizou-se o teste de Qui-quadrado (X^2) e teste exato de Fisher empregando-se o programa computacional SAS (Statistical Analysis System®). As análises foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando-se os resultados obtidos entre as duas formas de concepção, PIV e IA, observou-se neste estudo que a duração da gestação dos bezerros do grupo PIV foi significativamente maior do que a dos bezerros do grupo IA ($p < 0,001$), sendo em média $293,9 \pm 6,6$ dias e $287,1 \pm 6,7$ dias respectivamente (Quadro 1). Este fato foi observado por Yang et al. (2001), os quais encontraram aumento significativo, de nove dias, na duração da gestação, embora, diferença na duração da gestação não tenha sido observada entre bezerros produzidos por PIV e IA por outros autores (Behboodi et al. 1995, Bertolini & Anderson 2002). Camargo et al. (2010) também não observaram diferença entre a duração da gestação de bezerros da raça Gir (*Bos indicus*) produzidos por PIV e IA sugerindo que o efeito da PIV de embriões sobre o aumento da duração da gestação é menos perceptível em raças que tenham período de gestação naturalmente mais longo, como os animais das raças zebuínas estudados por eles.

Yang et al. (2001) compararam a duração da gestação e o peso ao nascimento entre bezerros de PIV e IA e constataram que estas duas variáveis foram em média significativamente maiores no grupo dos bezerros de PIV. No presente estudo, o peso médio ao nascimento dos bezerros do grupo PIV ($40,9 \pm 5,8$ kg) também foi significativamente maior ($p = 0,038$) do que o dos bezerros do grupo IA ($37,95 \pm 4,7$ kg) (Quadro 2). Embora, Horta et al. (1993) tenham evidenciado a relação do aumento do peso ao nascimento com o aumento da duração da gestação, a correlação significativa entre o peso ao nascimento e a duração da gestação não foi observada em nenhum dos grupos do presente estudo ($p > 0,05$). Behboodi et al. (1995) constataram em média maior peso ao nascimento nos animais do grupo PIV ($p < 0,001$), assim como Camargo et al. (2010), porém estes autores não observaram diferença significativa entre a

duração da gestação dos animais do grupo PIV e IA. Embora o peso ao nascimento possa ser influenciado pelo reprodutor utilizado no acasalamento (Camargo et al. 2010), neste estudo o fator touro não deve ter interferido, já que foram usados, proporcionalmente, sêmens dos mesmos reprodutores nos dois grupos estudados.

Outro fator que influencia o peso ao nascimento é o sexo do bezerro, já que os bezerros machos apresentam maior peso ao nascimento (Johanson & Berger 2003). Ao avaliar o sexo dos bezerros em cada um dos grupos estudados, observou-se que o peso médio dos bezerros machos foi maior em ambos os grupos. Além disso, para o grupo PIV, tanto os machos ($43,5 \pm 4$ kg) quanto as fêmeas ($39 \pm 6,2$ kg) apresentaram maior peso ao nascer do que os animais do grupo IA ($40,9 \pm 2,9$ kg para machos e $36,1 \pm 4,1$ kg para fêmeas). Estes resultados assemelham-se aos de outros autores que compararam o peso ao nascimento entre bezerros nascidos de PIV e IA (Behboodi et al. 1995, Yang et al. 2001, Camargo et al. 2010). Outra questão que pode ter influenciado também o menor peso ao nascimento dos bezerros do grupo IA é um fator primariamente relacionado as vacas da raça Brahman, pois fêmeas desta raça atuam limitando o crescimento fetal no último terço de gestação ao se comparar com fêmeas da raça Charolês (Gardiner 1980). Esta limitação do crescimento fetal parece ser decorrente da redução do peso dos placentomas e redução da perfusão uterina (Ferrell et al. 1991).

A transferência de embriões produzidos por PIV geralmente produz bezerros com peso ao nascimento, crescimento e comportamento normais, entretanto alguns animais exibem desenvolvimento anormal da placenta e/ou do feto, ocasionando a “síndrome da prole gigante”, caracterizada por animais excessivamente grandes ao nascimento, maior mortalidade perinatal, ocorrência de hidroalantóide e aumento do número de abortos (Farin et al. 2000). No presente estudo não foi observada a ocorrência de animais com características clínicas da “síndrome da prole gigante”, embora 6,3 % (5/80) dos bezerros do grupo PIV apresentassem peso ao nascimento 30 % acima da média dos animais do grupo IA. O maior peso médio ao nascimento dos animais do grupo PIV influenciou o peso dos bezerros aos 30 dias de vida, que

foi significativamente maior também nos bezerros do grupo PIV ($p = 0,017$) (Quadro 2). Entretanto, nos demais momentos avaliados 60, 90, 120 dias e na desmama (210 dias) o peso médio dos bezerros não foi significativamente diferente entre animais dos grupos PIV e IA mostrando a influência da alimentação no desenvolvimento destes animais, já que o peso à desmama não mostrou diferença estatística (Quadro 2).

O peso e o tamanho do bezerro, ao nascimento, associados às características específicas das receptoras dos embriões, tamanho e número de parições da vaca foram os principais fatores responsáveis pela ocorrência de distocias em receptoras da raça Nelore (Gasparelli et al. 2009a). Behboodi et al. (1995) observaram maiores índices de distocias durante o parto de bezerros de PIV (62 %) do que aqueles concebidos por IA (10%). Entretanto, o maior peso ao nascimento em bezerros de PIV ($n = 26$) em relação aos de IA ($n = 32$) na raça Gir não foi problema no momento do parto, sendo observado apenas um caso de distocia em um bezerro macho de 35 kg do grupo PIV (Camargo et al. 2010). No estudo de Camargo et al. (2010) o bezerro mais pesado ao nascimento foi uma fêmea do grupo PIV de 37 kg, sendo que a baixa ocorrência de distocia foi provavelmente consequência do peso ao nascimento dos bezerros Gir do grupo PIV ter sido relativamente menor do que aqueles observados em outras raças, como a raça Nelore, por outros autores (Gasparelli et al. 2009a) os quais observaram a ocorrência de distocia em 12 animais, concebidos por transferência de embrião *in vitro* e *in vivo*, que pesavam acima de 40 kg.

No atual estudo, embora a ocorrência de distocia tenha sido observada em 20% (16/80) dos partos do grupo PIV, sendo realizada uma cesariana e 15 trações com correntes obstétricas, e em apenas 5% (1/20) dos partos do grupo IA (tração com corrente obstétrica) não houve diferença estatística em relação à ocorrência de distocia entre os grupos PIV e IA ($p = 0,096$) (Quadro 1). Dos 16 bezerros do grupo PIV, nascidos de partos distócicos, 14 apresentavam peso ao nascimento variando entre 41 e 56 kg, valores estes acima da média do peso ao nascimento observada para os animais deste grupo. Portanto, embora o peso do bezerro ao nascimento favoreça a ocorrência de distocias,

outros fatores devem ser avaliados no momento da escolha dos cruzamentos e das receptoras (Gasparelli et al. 2009a).

A distocia pode resultar em traumas de parto no recém-nascido de tal maneira a influenciar sua disposição em mamar. Embora mesmo os neonatos normais apresentem leve acidose (Lisboa 2002), as intensas e prolongadas contrações durante o parto e a inabilidade em respirar ocasionam grave desequilíbrio ácido-básico nos bezerros nascidos de partos distócicos (Rice 1994). Partos laboriosos por mais de quatro horas também podem causar hipóxia no feto, edema encefálico e da língua (White 1993, Perino & Wittum 1995), redução da atividade física (Santos 2001), aumentando assim o tempo decorrido para que o bezerro fique em posição quadrupedal e ingira o colostro naturalmente (Dufty & Sloss 1977, Feitosa 1998); além disso, pode reduzir ou cessar completamente a absorção do colostro (Feitosa 1999). No presente estudo seis bezerros do grupo PIV (mamadeira $n = 4$, sonda esofágica $n = 2$) e um bezerro do grupo IA (sonda esofágica $n = 1$) ingeriram o colostro de forma indireta, não sendo observada diferença estatística da forma de ingestão do colostro entre os animais dos dois grupos estudados ($p > 0,05$) (Quadro 1). Dentre os sete animais que ingeriram o colostro de forma indireta apenas três (dois do grupo PIV e um do grupo IA) sofreram distocia, não sendo observada correlação entre a ocorrência da distocia e a assistência aos bezerros na ingestão do colostro.

Visto que a transferência de imunoglobulinas maternas para o feto através da placenta não ocorre em bovinos, bezerros nascem hipogamaglobulinêmicos e a absorção dos anticorpos colostrais ao nascimento é essencial para promover imunidade passiva durante o período neonatal (Brambell 1966). Visando melhor transferência de imunidade passiva era adotada na propriedade estudada a prática de manejo de ingestão do colostro, de forma direta ou indireta, nas primeiras seis horas de vida. Esta medida foi mantida e sendo assim só foram selecionados os bezerros que mamaram o colostro, na forma direta ou indireta, nas primeiras seis horas de vida. Estes bezerros eram acompanhados após o nascimento por pessoal treinado para constatação da ingestão do colostro neste período, sendo que quando

necessário havia interferência e fornecimento do colostro através de mamadeira ou sonda esofágica, como descrito anteriormente.

De acordo com os critérios adotados nesta pesquisa, onde pelo menos uma das três variáveis analisadas deveria apresentar valor menor ao adotado na classificação de transferência de imunidade passiva de “razoável à boa” (Feitosa et al. 2010), foi detectada FTIP em 10% dos animais do grupo PIV (8/80) e em 20% dos do grupo IA (4/20), não sendo observada diferença estatística entre os dois grupos. Apenas um animal, do grupo IA, apresentou atividade da GGT (22,3 UI/L), concentração sérica de proteína total (4,7 g/dL) e gamaglobulina (0,7 g/dL) abaixo da linha de corte, embora ele não tenha apresentado nenhuma enfermidade, chegando à desmama com 208 kg, próximo à média do grupo.

Embora a transferência de imunidade passiva seja essencial para a sobrevivência do bezerro outros fatores podem influenciar na sua sobrevivência e desenvolvimento (Guy et al. 1994, Tizard 2004, Feitosa et al. 2001). Assim como neste estudo, bezerros (*Bos taurus*) produzidos por fertilização *in vitro* absorveram imunoglobulinas colostrais suficientes para adquirir transferência de imunidade passiva adequada (Bailey et al. 1998, Jacobsen et al. 2002), e não foram evidenciadas diferenças significantes na concentração de IgG entre os bezerros produzidos por PIV e IA (Jacobsen et al. 2002). Estes autores concluíram que a baixa viabilidade vista em bezerros produzidos por PIV provavelmente não está relacionada com a habilidade e/ou eficiência de adquirir imunidade passiva pelo colostro.

O peso ao nascimento, a forma de ingestão do colostro e a ocorrência de distocia não tiveram relação com a FTIP em nenhum dos grupos estudados. Embora alguns estudos correlacionem o aumento da FTIP à ocorrência de distocias (Donovan et al. 1986, Schmidt et al. 1995), apenas um animal (1/16) nascido de parto distócico do grupo PIV teve FTIP (gamaglobulina = 0,37 g/dL). A baixa ocorrência de FTIP em bezerros nascidos de partos distócicos corrobora com os achados descritos por Stott & Reinhard (1978) que não observaram diferenças significativas na concentração sérica de imunoglobulinas entre bezerros nascidos de partos eutócicos e distócicos, e

com os de Gasparelli et al. (2009b), que não observaram diferenças significantes nos níveis séricos de PT e IgG nos animais nascidos de partos com e sem auxílio. Entretanto, o aumento da duração do parto (independentemente do tipo de parto) gerou uma redução nos níveis séricos de IgG, provavelmente decorrente do maior período de tempo até a primeira mamada e a menor quantidade de colostro ingerido (Gasparelli et al. 2009b).

De modo geral a baixa ocorrência de FTIP nos animais dos dois grupos é provavelmente decorrência da rápida assistência à parturiente, minimizando os riscos de hipóxia fetal, e o manejo de fornecimento de colostro obrigatório em até seis horas de vida, adotado na propriedade estudada. Portanto, assim como observado no presente estudo, a FTIP em animais pecuários parece estar mais relacionada ao não fornecimento e/ou ingestão do colostro do que pela incapacidade de absorção de macromoléculas através do epitélio intestinal (Gasparelli et al. 2009b).

Ao se avaliar a ocorrência das enfermidades entre os grupos estudados, observou-se presença de pelo menos uma enfermidade em 40% (32/80) e 50% (10/20) dos animais do grupo PIV e IA ($p = 0,42$), respectivamente (Quadro 3). A doença mais prevalente foi a diarreia, sendo observada em 26 (32,5%) bezerros do grupo PIV e em sete (35%) bezerros do grupo IA, também não sendo observada diferença estatística da ocorrência de diarreia entre os grupos estudados ($p = 0,83$) (Quadro 3). Diversos autores, que apontam as síndromes diarreicas como uma das principais doenças evidenciadas em bezerros neonatos no Brasil (Madruga et al. 1984, Benesi 1999, Mota et al. 2000, Oliveira Filho et al. 2007, Botteon et al. 2008, Gasparelli et al. 2009a) e em outros países (Virtala et al. 1996). Assim como observado por Oliveira Filho et al. (2007), os casos de diarreia em ambos os grupos se concentraram entre a quarta e sexta semana de vida.

Vários fatores de riscos estão relacionados com a ocorrência de diarreia e, entre estes, destacam-se os fatores ambientais como a exposição excessiva à amônia em bezerros que permanecem em ambientes fechados ou mal ventilados (Lorino et al. 2005) e a exposição a enteropatógenos (Oliveira Filho et al. 2007). O manejo alimentar, como a forma de aleitamento (Botteon et al.

2008), a adoção de substitutivos de leite (Schumann et al. 1990, Lorino et al. 2005) e a incorporação precoce de concentrados e silagem na dieta dos bezerros (Lorino et al. 2005) e, principalmente, os fatores que interferem na aquisição da transferência de imunidade passiva (Thornton et al. 1972; Lorino et al. 2005) são determinantes no desenvolvimento da diarreia.

No atual estudo não foi observada correlação entre a FTIP e a ocorrência da diarreia em nenhum dos grupos estudados. Como descrito por Feitosa et al. (2010) é temeroso afirmar que um determinado neonato seja mais ou menos susceptível à determinada enfermidade infecciosa, levando-se em consideração apenas as concentrações de imunoglobulinas séricas ou de indicadores indiretos. Portanto, outros fatores relacionados com a qualidade da imunidade adquirida, como a aquisição de imunoglobulinas específicas aos patógenos existentes na propriedade estudada e o tamanho do desafio (carga de patógenos) enfrentado pelos bezerros, provavelmente justifiquem a moderada ocorrência de diarreia nos animais dos grupos PIV e IA. Por outro lado, apenas três bezerros do grupo PIV (3/80, 3,8%) vieram a óbito (Quadro 3), sendo a diarreia associada a outras enfermidades concomitantes (onfalopatias e tristeza parasitária bovina) a causa do óbito destes animais. No grupo IA apenas um bezerro veio a óbito (1/20, 5%) (Quadro 3), por broncopneumonia, não havendo diferença significativa da mortalidade entre os dois grupos estudados. Ao se avaliar a FTIP e ocorrência dos óbitos, observou-se correlação entre estas duas variáveis apenas nos animais do grupo PIV ($p = 0,025$). A adequada ingestão de colostro (Schumann et al. 1990), a assistência veterinária permanente aos animais doentes, as condições ambientais e alimentares apropriadas provavelmente determinaram o baixo índice de mortalidade.

Assim como as diarreias, as onfalopatias (onfalites, onfaloflebites, mífases umbilicais e persistências de úraco) são muito comuns em bezerros (Oliveira Filho et al. 2007, Gasparelli et al. 2009a, Feitosa et al. 2010). Recentemente Rodrigues et al. (2010) avaliaram a forma de concepção, PIV ou IA, e a ocorrência de onfalopatias e observaram correlação significativa apenas entre a persistência de úraco e a PIV.

Embora o manejo adotado na propriedade, de tratamento do umbigo por cinco dias consecutivos com solução tópica à base de iodo a 5 % e aplicação subcutânea de doramectina, seja considerado adequado para prevenir onfalopatias em bezerros de corte (Oliveira Filho et al. 2007) e não tenha sido observada diferença estatística na ocorrência de onfalopatias entre os grupos PIV e IA ($p = 0,42$) (Quadro 3), o maior número de casos de onfalopatias observado no grupo PIV ($n = 9$) em relação ao grupo IA ($n = 1$) pode ser devido a defeitos congênitos ou retração do cordão umbilical (Rodrigues et al. 2010). No atual estudo as onfalopatias (onfalites e persistência de úraco) foram a segunda enfermidade mais evidenciada no grupo PIV (9/80), entretanto, a ocorrência das onfalopatias neste grupo não estava associada à FTIP. Outras doenças também evidenciadas no grupo PIV foram tristeza parasitária bovina (4/80), úlcera de córnea (4/80) e dermatofilose (1/80). No grupo IA foram evidenciadas as enfermidades broncopneumonia (2/20) e tristeza parasitária bovina (1/20). Observou-se diferença estatística apenas para a broncopneumonia ($p = 0,038$) entre os dois grupos (IA > PIV) representando 10% dos animais do grupo IA (Quadro 3).

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que o período de gestação e o peso ao nascimento foram maiores no grupo PIV, entretanto, o peso à desmama foi similar nos dois grupos estudados. A ocorrência de partos distócicos, de assistência à ingestão do colostro, de FTIP e de enfermidades, do nascimento à desmama, foi semelhante nos grupos PIV e IA. O peso ao nascimento, a forma de ingestão do colostro e a ocorrência de distocia não se associaram à FTIP em nenhum dos grupos estudados. Sendo assim, pode-se afirmar que nas condições estudadas a forma de concepção, PIV ou IA, não influenciou a sanidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman e nem interferiu na aquisição de imunidade passiva.

AGRADECIMENTOS

Este estudo teve suporte financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (2009/08152-9).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bailey T.L., Whittier W.D., Murphy J.M., Schurig G.G., Riva A.L., Swecker W.S., Petzer K.D., Bass R.T., Caudell D. & Eyestone W. 1998. Serum immunoglobulin type G concentrations in calves produced by IVF and delivered by elective cesarean section. *Theriogenology* 50:853-860.
- Behboodi E., Anderson G.B., BonDurant R.H., Cargill S.L., Kreuscher B.R., Medrano J.F. & Murray J.D. 1995. Birth of large calves that developed from in vitro-derived bovine embryos. *Theriogenology* 44:227–232.
- Benesi F.J. 1999. Síndrome diarreia dos bezerros. *Revta CRMV-ES* 2:10-13.
- Bertolini M. & Anderson G.B. 2002. The placenta as a contributor to production of large calves. *Theriogenology* 57:181-187.
- Botteon R.C.C.M., Botteon P.T.L., Santos Júnior J.C.B., Pinna M.H. & Lóss Z.G. 2008. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba – Rio de Janeiro e Minas Gerais. *Braz. J. Vet. Anim. Sci.* 45:153-160.
- Brambell F.W.R. 1966. The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. *Lancet* 2:1087-1093.
- Camargo L.S.A., Freitas C., As W.F., Ferreira A.M., Serapiao R.V. & Viana J.H.M. 2010. Gestation length, birth weight and offspring gender ratio of *in vitro*-produced Gyr (*Bos indicus*) cattle embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 120:10-15.
- Dirksen G.H., Gründer H.D. & Stöber M. 1993. Rosenberger: Exame Clínico dos Bovinos. 3th ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 419p.
- Donovan G.A., Badinga L., Collier R.J., Wilcox C.J. & Braun R.K. 1986. Factors influencing passive transfer in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 69:754-759
- Duffy J.H. & Sloss V. 1977. Anoxia in the bovine fetus. *Aust. Vet. J.* 53:262-267.
-

-
- Farin C.E., Farin P.W., Blodin P. & Crosier A.E. 2000. Fetal development of in vitro-produced embryos: possible association with uterine function. J. Anim. Sci. 77:1-16.
- Feitosa F.L.F. 1998. Dinâmica do proteinograma e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de bezerros desde o nascimento até um ano de vida e de vacas antes e após o parto, da raça Holandesa. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo. 219p.
- Feitosa F.L.F. 1999. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. Revista – CRMV-SP 2:17-22.
- Feitosa F.L.F., Birgel E.H., Ciarlini P.C., Mendes L.C.N. & PERRI S.H.V. 2001. Transferência de imunidade passiva colostrar e a morbidade e mortalidade de bezerros neonatos. Revista – CRMV-SP 4:09-15.
- Feitosa F.L.F., Camargo D.G., Yanaka R., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Bovino F., Lisboa J.A.N., Perri S.H.V. & Gasparelli E.R.F. 2010. Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, às 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP. Pesq. Vet. Bras. 30:696-704.
- Ferrell C. 1991. Maternal and fetal influences on uterine and conceptus development in the cow. II, Blood flow and nutrient flux. J. Anim. Sci. 70:1954-1965.
- Garcia J.M., Avelino K.B. & Vantini R. 2004. Estado da arte da fertilização *in Vitro* em bovinos. Anais 1ª Simpósio Internacional de Reprodução Animal. Londrina, PR, p.223-230 (Resumo).
- Gardiner R. 1980. Cerebral blood flow and oxidative metabolism during hypoxia and asphyxia in the new-born calf and lamb. J. Phys. 305:357-376.
-

- Gasparelli E.R.F., Camargo D.G., Yanaka R., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Bovino F., Perri S.H.V. & Feitosa F.L.F. 2009a. Avaliação física e dos níveis séricos de cortisol de bezerros neonatos da raça Nelore, nascidos de partos normais e auxiliados. *Pesq. Vet. Bras.* 29:823-828.
- Gasparelli E.R.F., Camargo D.G., Yanaka R., Perri S.H.V., Nogueira G.P., Lisboa J.A.n. & Feitosa F.L.F. 2009b. Teores séricos de proteína total, imunoglobulina G e cortisol em bezerros Nelore, ao nascimento e às 24 horas de vida: influência do tipo e da duração dos partos. *Ars. Vet.* 25:120-124.
- Guy M.A., McFadden T.B., Cockrell D.C. & Besser T.E. 1994. Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:3002-3007.
- Horta A.E.M. 1993. Large calf syndrome associated to the transfer of in vitro produced embryos. *Rev. Port. Zootec.* 1:27-41.
- Jacobsen H., Sangild P.T., Schmidt M., Holn P., Greve T. & Callesen H. 2002. Macromolecule absorption and cortisol secretion in newborn calves derived from in vitro produced embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 70:1-11.
- Johanson J.M. & Berger P.J. 2003. Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 86:3745-3755.
- Lisboa J.A.N., Benesi F.J., Leal M.L. & Teixeira C.M.C. 2002. Efeito da idade sobre o equilíbrio ácido básico de bezerras sadias no primeiro mês de vida. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 39:136-142.
- Lombard J.E., Garry F.B., Tomlinson S.M. & GARBER L.P. 2007. Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 90:1751-1760.
- Lorino T., Daudin J.J., Robin S. & Sanaa M. 2005. Factors associated with time to neonatal diarrhoea in French beef calves. *Prev. Vet. Med.* 68:91-102.
- Madrugá C.R., Gomes R., Schenk M.A.M., Kessler R.H., Gratão G., Gales M.E., Schenk J.A.P., Andreasi M., Brachin I. & Miguita M. 1984. Etiologia
-

- de algumas doenças de bezerros de corte no Estado de Mato Grosso do Sul. Embrapa-CNPGC, Campo Grande, MS. 27p.
- Mota R.A., Silva K.P.C., Ribeiro T.C.F., Ramos G.A.B., Lima E.T., Silva L.B.G. & Züniga C.E.A. 2000. Eficácia do Nuflor no tratamento de diarreias em bezerros e leitões. Hora Vet. 118:21-24.
- Naoum P.C. 1999. Eletroforese: Técnicas e Diagnósticos. 2a ed. Livraria Santos: São Paulo, 154p.
- Numabe T., Oikawa T., Kikuchi T. & Horiuchi T. 2000. Birth weight and birth rate of heavy calves conceived by transfer of in vitro or in vivo produced embryos. Anim. Reprod. Sci. 64:13-20.
- Oliveira Filho J.P., Silva D.P.G., Pacheco M.D., Mascarini L.M., Ribeiro M.G., Alfieri A.A., Alfieri A.F., Stipp D.T., Barros B.J.P. & Borges A.S. 2007. Diarréia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. Pesq. Vet. Bras. 27:419-424.
- Peixer M.A.S., Dode M.A.M. & Rumpf R. 2000. In vitro production of embryos- Embrapa genetic resources and biotechnology poin of view. Arq. Fac. Vet. UFRGS 28:163-166s.
- Perino L.J. & Wittum T.E. 1995. Effects os various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. Am. J. Vet. Res. 56:1144-1148.
- Prestes N.C. 2005. *In vitro* production of bovine embryos an obstetric overview of problems and challenges. Acta. Scient. Vet. 33:119-124.
- Rice L.E. 1994. Dystocia-related risk factors. Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Practice 10:53-68.
- Rodrigues C.A., Santos P.S.P., Perri S.H.V., Teodoro P.H.M., Anhesini C.R., Araújo M.A. & Filho M.N.V. 2010. Correlação entre os métodos de concepção, ocorrência e formas de tratamento das onfalopatias em bovinos: estudo retrospectivo. Pesq. Vet. Bras. 30:618-622.
-

- Santos G.T. 2001. Imunidade passiva colostrar em bovinos. Disponível em <http://www.nupel.uem.br/m_bezerrasnov.shtml>. Acesso em Mar.08.
- Schmidt M., Greve T., Avery B., Beckers J.F., Sulon J. & Hansen H.B. 1995. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of in vitro produced bovine embryos. *Theriogenology* 46:527-539.
- Schumann F.J., Townsend H.G.G. & Naylor J.M. 1990. Risk factors for mortality from diarrhea in beef calves in Alberta. *Can. J. Vet. Res.* 54:366-372.
- Stott G.H. & Reinhard E.J. 1978. Adrenal function and passive immunity in the dystocial calf. *J. Dairy Sci.* 61:1457-1461.
- Szasz G. 1969. A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase in calves. *Clin. Chem.* 15:124-135.
- Thornton J.R., Willoughby R.A. & McSherry B.J. 1972. Studies on diarrhea in neonatal calves: the plasma proteins of normal and diarrheic calves during the first ten days of age. *Can. J. Comp. Med.* 36:17-25.
- Tietz N.W. 1970. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Saunders:Toronto.
- Tizard I.R. 2004. *Veterinary Immunology: An Introduction*. 7a. ed., Saunders: Philadelphia:, 2004, 494p.
- Virtala A.M.K., Mechor G.D., Gröhn Y.T. & Erb H.N. 1996. Morbidity from nonrespiratory diseases and mortality in dairy heifers during the first three months of life. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208:2043-2046.
- White D.G. 1993. Colostral supplementation in ruminants. *Comp. Cont. Educ. Vet. Practice* 15:335-342.
- Yang B.S., Im G.S. & Park S.J. 2001. Characteristics of Korean native, Hanwoo, calves produced by transfer of in vitro produced embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 67:153-158.
-

Legendas dos quadros

Quadro 1. Médias (kg) dos pesos ao nascimento (PN) e aos 30 (P30), 60 (P60), 90 (P90), 120 (P120) e 210 dias de vida (P210) dos bezerros da raça Brahman do grupo produção *in vitro* de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20).

Quadro 2. Duração média da gestação (dias), tipo do parto e forma de fornecimento do colostro dos bezerros da raça Brahman do grupo produção *in vitro* de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20).

Quadro 3. Frequência (%) de doenças e óbitos dos bezerros da raça Brahman do grupo produção *in vitro* de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20). Frequência (%) de casos de diarreia, onfalopatias, tristeza parasitária bovina (TPB), úlcera de córnea, dermatofilose e broncopneumonia (BCP) nos bezerros do grupo PIV e IA.

Quadro 1. Duração média da gestação (dias), tipo do parto e forma de fornecimento do colostro dos bezerros da raça Brahman do grupo produção *in vitro* de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20).

Grupo	Duração da gestação	Tipo do parto		Forma de fornecimento do colostro	
		Eutócico	Distócico	Direta	Indireta
PIV	293,9 ± 6,6 ^{a*}	80% (64/80)	20% (16/80)	92,5% (74/80)	7,5% (6/80)
IA	287,1 ± 6,7 ^b	95% (19/20)	5% (1/20)	95% (19/20)	5% (1/20)

*Letras diferentes na coluna diferem entre si (p < 0,05)

Quadro 2. Médias (kg) dos pesos ao nascimento (PN) e aos 30 (P30), 60 (P60), 90 (P90), 120 (P120) e 210 dias de vida (P210) dos bezerros da raça Brahman do grupo produção *in vitro* de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20).

Grupo	PN	P30	P60	P90	P120	P210
PIV	40,9 ± 5,8 ^{a*}	74,8 ± 13,5 ^a	100,2 ± 14,4	129,5 ± 18,5	160,4 ± 21,4	221,1 ± 27,4
IA	37,9 ± 4,7 ^b	66,7 ± 10,8 ^b	94,4 ± 18,1	124,1 ± 20,2	157,2 ± 23,4	214,8 ± 32,9

*Letras diferentes na coluna diferem entre si (p < 0,05)

Quadro 3. Frequência (%) de doenças e óbitos dos bezerros da raça Brahman do grupo produção *in vitro* de embriões (PIV, n = 80) e do grupo inseminação artificial (IA, n = 20). Frequência (%) de casos de diarreia, onfalopatias, tristeza parasitária bovina (TPB), úlcera de córnea, dermatofilose e broncopneumonia (BCP) nos bezerros do grupo PIV e IA.

Grupo	Doenças	Diarreia	Onfalopatias	TPB	Úlcera córnea	Dermatofilose	BCP	Óbitos
PIV	40% (32/80)	32,5% (26/80)	11,3% (9/80)	5% (4/80)	5% (4/80)	1,2% (1/80)	^a *	3,8% (3/80)
IA	50% (10/20)	35% (7/20)	5% (1/20)	5% (1/20)	—	—	10% ^b (2/20)	5% (1/20)

*Letras diferentes na coluna diferem entre si (p < 0,05)

Conclusões

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

O peso ao nascimento e o período de gestação do grupo FIV foram maiores do que do IA.

A ocorrência de partos distócicos e da assistência à ingestão do colostro pelos bezerros no grupo FIV foi similar à do grupo IA.

A ocorrência de FTIP e de enfermidades, do nascimento até a desmama, foi semelhante nos grupos FIV e IA.

O peso ao nascimento, a forma de ingestão do colostro e a ocorrência de distocia não se associaram à FTIP em nenhum dos grupos estudados.

Pode-se afirmar, nas condições estudadas que a forma de concepção, FIV ou IA, não influenciou a sanidade e desenvolvimento de bezerros da raça Brahman, e nem interferiu na aquisição de imunidade passiva.

Referências Bibliográficas

Seguem as referências bibliográficas utilizadas no Capítulo I.

ACBB. Pontos fortes da raça Brahman. 2010. Disponível: <www.brahman.com.br> Acesso em Mai.10.

ARGENZIO, A. Digestão, absorção e metabolismo. In: SWENSON, M.J. **Dukey's Fisiologia dos Animais Domésticos**. 10a. ed., Ithaca: Cornell University Press, p.263-264, 1984.

AZZAM, S.M.; KINDER, J.E.; NIELSEN, M.K.; WERTH, L.A., GREGORY, K.E.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M. Environmental effects on neonatal mortality of beef calves. **J. Anim. Sci.**, v.71, p.282-290, 1993.

BARACAT, R.S.; MACHADO NETO, R.; DANIELE, C.; BESSI, R.; PACKER, I.U. Fornecimento prolongado de colostro e proteção passiva em bezerros recém nascidos. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.32, p.1215-1220, 1997.

BARROS, H.M.; LAMOUNIER, R.D.; ARAÚJO, L.M.; BENINTENDI, R.P. "Causa mortis" em bezerros *Bos indicus*, em regime de criação extensiva. **Bol. Ind. Anim.**, v.23, p.199, 1965/66.

BEAM, A.L.; LOMBARD, J.E.; KOPRAL, C.A.; GARBER, L.P.; WINTER, A.L.; HICKS, J.A.; SCHLATER, J.L. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. **J. Dairy Sci.**, v.92, p.3973-3980, 2009.

BEHBOODI, E.; ANDERSON, G.B.; BONDURANT, R.H.; CARGILL, S.L.; KREUSCHER, B.R.; MEDRANO, J.F.; MURRAY J.D. Birth of large calves that developed from in vitro-derived bovine embryos. **Theriogenology**, v.44, p.27–232, 1995.

BENESI, F.J. Principais enfermidades de bezerros neonatos. Como diagnosticá-las e tratá-las. In: Congresso Paulista de Medicina Veterinária, 2004. Disponível: <www.spmv.org.br/compavet2004> Acesso em Mai.08.

BENESI, F.J. Síndrome asfixia neonatal dos bezerros: importância e avaliação clínica. **Arq. Escola Med. Vet. UFBA**, v.16, p.38-48, 1993.

BERGE, A.C. B.; BESSER, T.E.; MOORE, D.A. et al.. Evaluation of the effects of oral colostrum supplementation during the first fourteen days on the health and performance of preweaned calves. **J. Dairy Sci.**, v.92, p.286-295, 2009

BESSER, T.E.; GARMENDIA, A.E.; MCGUIRE, T.C.; GAY, C.C. Effect of colostral immunoglobulin G1 and immunoglobulin M concentrations on immunoglobulin absorption in calves. **J. Dairy Sci.**, v.68, p.2033, 1985.

BESSER, T.E.; GAY, C.C.; PRITCHETT, L. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.198, n.3, p.419-422, 1991.

BESSER, T.E.; GAY, C.G. The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.10, n.1, 1994.

BIELECKA, M. Studies on mortality in calves V. Effect of the genotype of the calves and the method of giving colostrum on the IgG immunoglobulin level in serum. **Roczniki Nauk Rolniczych Seria B. Zootech.**, v.103, n.3, p.87-95, 1988.

BISWAL S.P.; DUTTA, N.K.; MISHRA, P.R. Estimation of total serum protein and immunoglobulin level in neonatal calves. **Indian Vet. J.**, v.70, p.7-9, 1993.

BLOM, J.Y. the relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease and enteritis in calves. **Nord. Vet. Med.**, v.34, p.276-284, 1982.

BLUM, J.W.; BRUCKMAIER, R.M.; MOSER, M. Endocrine, metabolic and hamatological changes associated with reduced growth performance during chronic pneumonia in calves: a study. **Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.**, v.103, p.115-116, 1996.

BORGES, A.S.; FEITOSA, F.L.F.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; MENDES, L.C.N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de

colostro sobre a concentração de proteína total e suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.53, p.629-634, 2001.

BORGES, A.S. **Avaliação da eficácia da administração de plasma, por via intravenosa, como tratamento da falência de transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Holandesa.** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, 1997. 84p. (Dissertação, Mestrado).

BOTTEON, R.C.C.M.; BOTTEON, P.T.L.; SANTOS JÚNIOR, J.C.B.; PINNA, M.H.; LÓSS, Z.G. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba – Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Braz. J. Vet. Anim. Sci.**, v.45, p.153-160, 2008.

BRUNING-FANN, C.; KANEENE, J.B. Environmental and management risk factors associated with morbidity and mortality in perinatal and pre-weaning calves: a review from an epidemiological perspective. **Vet. Bull.**, v.62, p.399-413, 1992.

CABELLO, G.; LEVIEUX, D. Effects of thyroxine and climatic factors on colostral gammaglobulin absorption in newborn calves. **Ann. Rech. Vet.**, v.9, p.309-318, 1978.

CAMPANA, W.M.; BAUMRUCKER, C.R. Hormones and growth factors in bovins milk. In: JENSEN, R.G. **Handbook of milk composition.** Nova York: Academic Press, p.476-494, 1995.

CHATURVEDI, G.C.; KAURA, Y.K.; MINAKSHI, Y.K. hypogammaglobulinaemia in calves: a threat to dairy industry. **Livestock Adviser**, v.15, p.23-27, 1990.

COSTA, M.C.; FLAIBAN, K.K.M.C.; CONEGLIAN, M.M.; FEITOSA, F.L.F.; BALARIN, M.R.S.; LISBÔA, J.A.N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. **Pesq. Vet. Bras.**, v.28, p.410-416, 2008.

DANIELE, C.; MACHADO NETO, R. BARACAT, R.S.; BESSI, R. Efeito de diferentes manejos de fornecimento de colostro sobre os níveis séricos de proteína e de albumina séricas e desempenho de bezerras recém-nascidas. **Sci. Agric.**, v.51, p.381-388, 1994.

DAVIDSON, J.A.; YANCEY, S.P.; CAMPBELL, S.G.; WARNER, R. G. Relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease in calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.179, p.708-710, 1981.

DIAS, R.O.S. **A saúde do rebanho começa com o controle das onfalopatias.** Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br>. Acesso em 12 de julho de 2002.

DUFTY, J.H.; SLOSS, V. Anoxia in the bovine fetus. **Aust. Vet. J.**, v.53, p.262-267, 1977.

EDWARDS, S.A. Factors affecting the time to first suckling in dairy calves. **Anim. Prod.**, v.34, p.339-346, 1982.

FAGLIARI, J.J.; OLIVEIRA, E.C.; PEGORER, M.F.; FERRANTE JÚNIOR, L.C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.48, p.225-232, 1996.

FARIN, P.W.; PIEDRAHITA, J.A.; FARIN, C.E. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. **Theriogenology**, v.65, p.178-191, 2006.

FARIN, P.W.; FARIN, C.E. Transfer of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*: survival and fetal development. **Bio. Reprod.**, v.52, p.676-682, 1995.

FEITOSA, F.L.F. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **Revista – CRMV-SP**, v.2, p.17-22, 1999.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; CIARLINI, P.C.; MENDES, L.C.N.; PERRI, S.H.V. Transferência de imunidade passiva colostrar e a morbidade e mortalidade de bezerros neonatos. **Revista – CRMV-SP**, v.4, p.09-15, 2001a.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIRANDOLA, R.M.S.; PERRI, S.H.V. 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**, v.31, p.251-255, 2001b.

FEITOSA, F.L.F.; CAMARGO, D.G.; YANAKA, R.; MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R.; BOVINO, F.; LISBOA, J.A.N.; PERRI S.H.V.; GASPARELLI E.R.F. Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, às 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.696-704, 2010.

FILTEAU, V.;BOUCHARD, E.; FECTEAU, G.; DUTIL, L.; DUTREMBLAY D. Healthy status and risk factors associated with failure of passive transfer of immunity in newborn beef calves in Québec. **Can. Vet. J.**, v.44, p.907-913, 2000.

FISHER, E.W. Neonatal survival. **Bris. Vet. J.**, v.136, p.585-589, 1980.

GALLI, C.; CROTTI, G.; NOTARI, C.; TURINI, P.; DUCHI, R.; LAZZARI, G. Embryo production by ovum pick up from live donors. **Theriogenology**, v.55, p.1341-1357, 2001.

GARBELLINI, I.C. Nelore + Gir + Guzerá + Krishna Valley = Galinha choca. **O Brahman**, v.1, p.36, 2008.

GARCIA, J.M.; AVELINO, K.B.; VANTINI, R. Estado da arte da fertilização *in Vitro* em bovinos. **Anais...** 1ª Simpósio Internacional de Reprodução Animal. Londrina /PR, p.223-230, 2004.

GASPARELLI, E.R.F.; CAMARGO, D.G.; YANAKA, R.; FERES, F.C.; VIEIRA, R.F.C.; PERRI, S.H.V.; CIARLINI, P.C.; FEITOSA, F.L.F. Influência do tipo de parto nos valores das enzimas hepáticas e de uréia e creatinina de bezerros Nelore oriundos de fertilização *in vitro* (FIV) e *in vivo* (FV) ao nascimento e às 24 horas de vida. **Vet. Zootec.**, v.15, p.360-369, 2008.

GONÇALVES, R.C.; LISBOA, J.A.N.; SOUZA, M.V.; ALMEIDA, C.T.; KUCHEMBUCK, M.R.G.; CHIACCHIO, S.B. Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, v.7, p.144-147, 2000.

GONÇALVES, R.C.; SILVA, D.P.G.; CHIACCHIO, S.B.; BORGES, A.S.; AMORIM, R.M.; BANDARRA, E.P.; TAKAHIRA, R.K. Anaplasmosse neonatal em bezerro. **Vet. Notícias**, v.11, p.95-98, 2005.

GUTZWILLER, A. Effect of colostrum intake on diarrhoea incidence in new-born calves. **Schweiz. Arch. Tierheilkd.**, v.144, p.59-64, 2002.

HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; CHASE JR., C.C.; BOWERS, E.J.; RANDEL, R.D.; MURPHY, C.N.; VOGT, D.W.; TEWOLDE, A. Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano, compared with Brahman, Angus, and Hereford cattle in Florida. **J. Anim. Sci.**, v.74, p.295-303, 1996.

HEATH, S.E. Neonatal diarrhea in calves: Investigation of herd management practices. **Comp. Cont. Educ. Prating Vet.**, v.14, p.385-395, 1992.

KRUIP, T.A.M.; BEVERS, M.M.; KEMP, B. Enviroment of oocyte and embryo determines health of IVP offspring. **Theriogenology**, v.53, p.611-618, 2000.

KUHNE, S.; HAMMON, H.M.; BRUCKMAIER, R.M., BLUM, J. W. Growth performance, metabolic and endocrine traits, and intestinal absorptive capacity in neonatal calves fed either colostrum or milk replacer at low and high intestics. **J. Anim. Sci.**, v.78, p.609-620, 2000.

LANGHOLZ, H.J.; SCHMIDT, F.W.; DERENBACH, J.; KIM, J.W. Suckling behaviour, immunoglobulin status and weaning performance in suckler cows. **World Review Anim. Prod.**, v.23, n.2, p.33-38, 1987.

LAZZARI, G.; WRENZYCKI, C.; HERMANN, D.; DUCHI, R.; KRUIP, T.; NIEMANN, H.; GALLI, C. Cellular and molecular deviations in bovine in vitro-produced embryos are related to the large offspring syndrome. **Biol. Reproduction**, v.67, p.767-775, 2002.

LEMOS, J.O. **O Brahman no Brasil**. 1a. ed, Uberaba: Rotal, 2006, 368p.

LOMBARD, J.E.; GARRY, F.B.; TOMLINSON, S.M.; GARBER, L.P. Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. **J. Dairy. Sci.**, v.90, p.1751-1760, 2007.

LORINO, T.; DAUDIN, J.J.; ROBIN, S.; SANAA, M. Factors associated with time to neonatal diarrhoea in French beef calves. **Prev. Vet. Med.**, v.68, p.91-102, 2005.

MACHADO NETO, R. Formação e transferência da imunidade passiva. **Anais... 38ª Reun. Soc. Brás. Zootec. FEALQ**, Piracicaba, p.644-657, 2001.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; PRADO, G.V. B.; BESSI, R.; PAULETTI, P. Colostral immunoglobulins absorption in Canchim and Nelore calves. **Rev. Bras. Zootec.**, v.33, p.1544-47, 2004.

MARTINS, C.F. **O impacto da transferência de embriões (TE) e da fecundação in vitro (FIV) na produção de bovinos no Brasil**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/243/>>. Acesso em: 25 out. 2010.

McGUIRK, S.M. Neonatal calf management: a guide to disease investigation. **Bov. Practition.**, v.31, p.83-86, 1997.

MIESSA, L.C.; AMARAL, A.; BOTTEON, R.C.C.M.; BOTTEON, P.T.L. Morbidade e mortalidade de bezerros leiteiros devido a processos inflamatórios do cordão umbilical. **Hora Vet.**, v.23, p.16-18, 2002

MORAES, M.P.; WEIBLEN, R.; REBELATTO, M.C.; SILVA, A.M. Relationship between passive immunity and morbidity and weight gain in dairy cattle. **Cienc. Rural**, v.30, p.299-304, 2000.

MORIN, D.E.; McCOY, G.C.; HURLEY, W.L. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. **J. Dairy Sci.**, v.80, p.747-753, 1997.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; RIBEIRO, T.C.F.; RAMOS, G.A.B.; LIMA, E.T.; SILVA, L.B.G.; ZÜNIGA, C.E.A. Eficácia do Nuflor no tratamento de diarreias em bezerros e leitões. **Hora Vet.**, v.118, p.21-24, 2000.

NASSER, L.F.; REZENDE, L.F.; BÓ, G.A.; BARTH, A. Induction of parturition in Zebu-cross recipients carrying *in vitro*-produced *Bos indicus* embryos. **Theriogenology**, v.69, p.116-123, 2008.

NOCEK, J.E.; BRAUND, D.G.; WARNER, R.G. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on gain, health and serum protein. **J. Dairy Sci.**, v.67, p.319-333, 1984.

NUMABE, T.; OIKAWA, T.; KIKUCHI, T.; HORIUCHI T. Birth weight and gestation length of Japanese Black calves following transfer of embryos produced *in vitro* or without co-culture. **J. Vet. Med. Sci.**, v.63, p.515-519, 2001.

NUMABE, T.; OIKAWA, T.; KIKUCHI, T.; HORIUCHI T. Birth weight and birth rate of heavy calves conceived by transfer of *in vitro* or *in vivo* produced embryos. **Anim. Reprod. Sci.**, v.64, p.13-20, 2000.

ODDE, K.G. Survival of the neonatal calf. **Vet. Clinics North Am.: Food Anim. Practice**, v.4, p.501-508, 1988.

ODLE, J.; ZIJLSTRA, R.T.; DONOVAN, S.M. Intestinal effects of growth factors of neonate agriculture importance. **J. Anim. Sci.**, v.74, p.2509-2522, 1996.

OLIVEIRA FILHO, J.P. **Diarréia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico.** 2006. 110f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp.

OLIVEIRA FILHO, J.P.; SILVA, D.P.G.; PACHECO, M.D.; MASCARINI, L.M.; RIBEIRO, M.G.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; STIPP, D.T.; BARROS, B.J.P.; BORGES, A.S. Diarréia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. **Pesq. Vet. Bras.**, v.27, p.419-424, 2007.

PAIVA, F.A.; NEGRÃO, J.A.; BUENO, A.R.; SARAN-NETTO, A.; LIMA G.C. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerros Holandeses. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, p.739-743, 2006.

PARANHOS da COSTA, M.J.R.; TOLEDO, L.M.; CROMBERG, V.U. Implicações práticas e métodos de estudo das relações materno-filiais em bovinos de corte nas primeiras horas após o parto. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 11, 2001, Goiânia. Anais...Goiânia. 2001. p.110-117.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BESSI, R. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça Holandesa. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.37, p.89-94, 2002.

PEIXER, M.A.S.; DODE, M.A.M.; RUMPF, R. In vitro production of embryos- Embrapa genetic resources and biotechnology poin of view. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.28, p.163-166, supl., 2000.

PERES, J.R. **Importância do fornecimento do colostro (06/04/2000); Colostro – quando fornecer? (13/04/2000); Colostro – quanto fornecer? (13/04/2000); Como avaliar a qualidade do colostro? (27/04/2000).** Disponível: <www.milkpoint.com.br/mn/radarestecnicos/default.asp> Acesso em set.2001.

PERINO, L.J.; SUTHERLAND, R.L.; WOOLLEN, N.E. Serum gammaglutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after

suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer immunoglobulin G. **Am. J. Vet. Res.**, v.54, p.56-59, 1993.

PERINO, L.J.; WITTUM, T.E. Effects os various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. **Am. J. Vet. Res.**, v.56, p.1144-1148, 1995.

PRESTES, N.C. *In vitro* production of bovine embryos an obstetric overview of problems and challenges. **Acta. Scient. Vet.**, v.33, p.119-124, 2005.

PRESTES, N.C.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. **Obstetrícia Veterinária**. 1a. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 241p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária – um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9a. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2002. 1737p.

RAMIN, A.G.; DANIEL, R.C.W.; FENWICK, D.C.; VERRAL, R.G. Serum immunoglobulin concentrations in young calves and their relationship with weight gain, onset of puberty and pelvic area at 15 months of age. **Livestock Prod. Sci.**, v.45, p.155-162, 1996.

REBHUM, W.C. **Doenças do gado leiteiro**. 1a. ed. São Paulo: Roca, 2000. 642p.

RÉRAT, M.; ZBINDEN, Y.; SANER, R.; HAMMON, H.; BLUM, J.W. In vitro embryo production: growth performance, feed efficiency, and hematological, metabolic, and endocrine status in calves. **J. Dairy Sci.**, v.88, p.2579-2593, 2005.

RIBEIRO, A.R.B.; ALENCAR, M.M.; NEGRÃO, J.A.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; STARLING, J.M.C. Avaliação das respostas fisiológicas de bezerros zebuínos puros e cruzados nascidos em clima subtropical. **R. Bras. Zootec.**, v.35, p.1146-1153, 2006.

RICE, L.E. Dystocia-related risk factors. **Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Practice**, v.10, p.53-68, 1994.

RIET-CORREA, F. **Onfalite e artrite**. In. RIET-CORREA, F.; SCHILD A.L.; LEMOS R.A.A.; BORGES, J.R.J. Doenças de Ruminantes e Equinos. v.1, 3a. ed., Varela: São Paulo, p.405-406, 2007.

ROBINSON, J.D.; STOTT, G.H.; DENISE, S.K. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. **J. Dairy Sci.**, v.71, p.1283-1287, 1988.

RODRIGUES, C.A.; SANTOS, P.S.P.; PERRI, S.H.V.; TEODORO, P.H.M.; ANHESINI, C.R.; ARAÚJO, M.A.; FILHO, M.N.V. Correlação entre os métodos de concepção, ocorrência e formas de tratamento das onfalopatias em bovinos: estudo retrospectivo. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.618-622, 2010.

SANTOS, G.T. **Imunidade passiva colostrar em bovinos**. 2001. Disponível em <http://www.nupel.uem.br/m_bezerrasnov.shtml>. Acesso em Mar.08.

SCHMIDEK, A. Habilidade materna e aspectos relacionados à sobrevivência de bezerros: valores ótimos nem sempre são valores extremos. **ABCZ**, v.21, p.72-75, 2004.

SILVA, L.A.F.; ACYPRESTE, C.S.; DIAS, F.C.; FIORAVANTI, M.C.S.; RAMOS, L.S.; TEIXEIRA, P.A. Importância do manejo no controle da mortalidade de bezerros em uma propriedade rural de exploração mista de bovinos. **Rev. Bras. Cienc. Vet.**, v.8, p.94-99, 2001.

SIMÕES, S.V.D.; COSTA, R.G.; SOUZA, P.M.; MEDEIROS, A.N.; VILAR, A.L. Imunidade passiva, morbidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejos de colostro. **Pes. Vet. Bras.**, v.25, p.219-224, 2005.

SINCLAIR, K.D.; BROADBENT, P.J.; DOLMAN, D.F.; TAYLOR, A.G.; REAPER, J.F. In vitro produced embryos as a means of achieving pregnancy and improving productivity in beef cows. **Theriogenology**, v.41, p.294, 1994.

STALEY, T.E.; BUSH, L.J. Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease. **J. Dairy Sci.**, v.68, p.184-205, 1985.

STOTT, G.H. Immunoglobulin absorption in calf neonates with special considerations of stress. **J. Dairy Sci.**, v.63, p.681-688, 1980.

TAKAHASHI, M.; GOTO, T.; TSUCHIYA, H.; UEKI, A.; KAWAHATA, K. Ultrasonographic monitoring of nuclear transferred fetal weight during the final stage of gestation in Holstein cows. **J. Vet. Med. Sci.**, v.67, n.8, p. 807-811, 2005.

THOMPSON, J.C.; PAULI, J.V. Colostral transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. **N. Z. Vet. J.**, v.29, p.223-226, 1981.

TIZARD, I.R. **Veterinary Immunology: An Introduction**. 7a. ed., Philadelphia: Saunders, 2004, 494p.

VARAGO, F.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES, M.A. Bovine in vitro embryo production: state of art and perspective of a constant evolution technique. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.32, p.100-109, 2008.

VAZ, A.K.; FURTADO, A.C.; MARCA, A.; PATERNO, M.R. Qualidade do colostro bovino e transferência de imunidade aos bezerros recém-nascidos na região de Lages, SC. **Rev. Cienc. Agrovet.**, v.3, n.2, p.116-120, 2004.

VESTEWEBER, J.G. Respiratory problems of newborn calves. **Vet. Clinics North Am. Food Anim. Practice.**, v.13, n.3, p.411-424, 1997.

WALKER, S.K.; HEARD, T.M.; SEAMARK, R.F. In vitro culture of sheep embryos without co-culture successes and perspectives. **Theriogenology**, v.37, p.111-126, 1992.

WHITE, D.G. Colostral supplementation in ruminants. **Comp. Cont. Educ. Vet. Practice**, v.15, n.2, p.335-342, 1993.

WILLIAMS, M.R.; SPOONER, R.L.; THOMAS, L.H. Quantitative studies on bovine immunoglobulins. **Vet. Rec.**, v.96, n.4, p.81-84, 1975.

YANG, B.S.; IM, G.S.; Park, S.J. Characteristics of Korean native, Hanwoo, calves produced by transfer of in vitro produced embryos. **Anim. Reprod. Sci.**, v.67, p.153-158, 2001.

YOUNG, L.E.; SINCLAIR, K.D.; WILMUT, I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. **Rev. Reprod.**, v.3, p.115-163, 1998.

Anexos

Regras da Revista

**INSTRUÇÕES PARA AUTORES – PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA,
TRANSCRITAS DO SITE WWW.PVB.COM.BR, ACESSADA EM 06/01/2011**

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras “pesadas”), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000.

Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia somente os da área de Animais Selvagens serão recebidos para submissão.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$ 120,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título,

ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões.

Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos.

Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou

obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Helvética, corpo 11, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2 cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada.

Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails de outros autores;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exememplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor.

Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo

possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto auto-explicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.
