

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

TAMILIS CORNACHINI CORADINI

CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DO TECIDO ÓSSEO E A IDADE
À PUBERDADE EM FÊMEAS NELORE

ARAÇATUBA-SP

2022

TAMILIS CORNACHINI CORADINI

**CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DO TECIDO ÓSSEO E A IDADE
À PUBERDADE EM FÊMEAS NELORE**

Orientador(a): Dra. Marina Rufino Salinas Fortes

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal)

ARAÇATUBA-SP

2022

C787c Coradini, Tâmilis Cornachini
CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DO TECIDO ÓSSEO E
A IDADE À PUBERDADE EM FÊMEAS NELORE / Tâmilis
Cornachini Coradini. -- Araçatuba, 2022
29 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientadora: Marina Rufino Salinas Fortes

1. Precocidade sexual. 2. Maturação óssea. 3. Fenótipo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DO TECIDO ÓSSEO E A IDADE À
Título: PUBERDADE EMFÊMEAS NELORE

AUTORA: TAMILIS CORNACHINI CORADINI

ORIENTADORA: MARINA RUFINO SALINAS FORTES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARINA RUFINO SALINAS FORTES (Participação Virtual)
The University of Queensland



Dr. DAVID GIRALDO ARANA (Participação Virtual)
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. RAFAEL SILVA CIPRIANO (Participação Virtual)
Curso de Medicina Veterinária / Centro Católico Auxilium - UNISALESIANO/Araçatuba

Araçatuba, 28 de janeiro de 2022.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

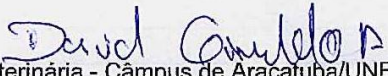
Título: CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DO TECIDO ÓSSEO E A IDADE À PUBERDADE EM FÊMEAS NELORE

AUTORA: TAMILIS CORNACHINI CORADINI

ORIENTADORA: MARINA RUFINO SALINAS FORTES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARINA RUFINO SALINAS FORTES (Participação Virtual)
The University of Queensland

Dr. DAVID GIRALDO ARANA (Participação Virtual) 
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. RAFAEL SILVA CIPRIANO (Participação Virtual)
Curso de Medicina Veterinária / Centro Católico Auxilium - UNISALESIANO/Araçatuba

Araçatuba, 28 de janeiro de 2022.

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA - CÂMPUS DE ARAÇATUBA
RUA CLÓVIS PESTANA, 793 - 16050-680 - ARAÇATUBA - SÃO PAULO
TEL: (13) 3371-3000 FAX: (13) 3371-3001
E-MAIL: fmv@unesp.br



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**Título: CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DO TECIDO ÓSSEO E A IDADE À
PUBERDADE EM FÊMEAS NELORE**

AUTORA: TAMILIS CORNACHINI CORADINI

ORIENTADORA: MARINA RUFINO SALINAS FORTES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARINA RUFINO SALINAS FORTES (Participação Virtual)
The University of Queensland

Dr. DAVID GIRALDO ARANA (Participação Virtual)
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. RAFAEL SILVA CIPRIANO (Participação Virtual)
Curso de Medicina Veterinária / Centro Católico Auxilium - UNISALESIANO/Araçatuba

Araçatuba, 28 de janeiro de 2022.

Dedico

A Deus e Nossa Senhora, pude sentir teu cuidado à todo momento. Aos meus pais, por serem a razão do meu existir. Ao amor da minha vida Bruno, por sempre acreditar em mim e segurar a minha mão nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Toda a minha gratidão, Deus, pela vida e pelas bênçãos recebidas. Obrigado por nunca largar a minha mão nos momentos em que eu mais preciso do Seu amor!

Aos meus pais Matilde e Valter, por me ensinar ir em busca dos meus objetivos e acreditarem no meu potencial.

Ao meu marido Bruno, meu amigo, parceiro, que esteve comigo em todos os momentos. Obrigada por tudo!

Aos amigos e familiares próximos, por todo apoio emocional.

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA-UNESP), e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

A minha orientadora Prof^a. Dra. Marina Fortes, por ter me aceitado como orientada. Pela oportunidade de crescimento, pela compreensão e por me permitir explorar as minhas capacidades em todo momento. Muito obrigada!

Pelo Prof^o Dr. Guilherme de Paula Nogueira, por todo apoio

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos durante o primeiro ano de mestrado.

À Fazenda Santa Luzia e Fazenda Vale da Natureza, por terem aceitado a participar do experimento e por me receberem tão bem.

Ao Dr. David Giraldo Arana e Prof. Dr. Rafael Silva Cipriano por terem participado da banca de qualificação e pelas contribuições, muito obrigada.

Ao Dr. Diogo Gauber e Hospital Veterinário do Unisaesiano-Araçatuba, pelas dosagens das enzimas.

Ao aluno de iniciação José Luiz Severo que mesmo por distancia me ajudou na finalização das dosagens das amostras.

Ao Dr. Edson de Paula da UNEMAT, campus Pontes e Lacerda-MT, por ter me ajudado nas coletas e processamento das amostras. Muito obrigada!

CORADINI-CORNACHINI, T. Correlação entre a atividade do tecido ósseo e a idade à puberdade em fêmeas Nelore. 2022. 27 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

RESUMO

A hipótese testada foi de que a atividade da enzima Fosfatase Alcalina (FA), fosse menor em novilhas precoces comparada as tardias. O objetivo foi determinar uma referência da diminuição do crescimento ósseo e utilizá-la para seleção de fêmeas com puberdade tardia ou precoce. Avaliamos a atividade da enzima Fosfatase Alcalina (FA), Aspartato Amino Transferase (AST) e da Alanino Amino Transferase (ALT) (específicas do fígado), a variação na taxa de cálcio/fósforo (Ca:P) e a concentração do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), no soro de animais desmamados em duas fazendas. Foram utilizadas 184 fêmeas Nelore, pesando em média 275 kg, em que período. As amostras foram coletadas aos 11 meses de idade, os animais foram pesados e a altura de garupa mensurada. A atividade do tecido ósseo mensurada através da FA apresentou correlação negativa com a altura e peso ($-3.75 E -1$ e $-4.22 E -1$). A atividade da FA, a concentração de Ca^{++} e altura foram maiores no grupo precoce que nas tardias. A FA não pode ser um indicativo para seleção da precocidade em fêmeas Nelore. Mais estudos são necessários para comprovação desse resultado.

Palavras-chave: Precocidade sexual. Maturação óssea. Fenótipo.

CORADINI-CORNACHINI, T. Correlation between bone tissue activity and age at puberty in Nellore females. 2022. 27 f. Dissertation (Master's) - Faculty of Veterinary Medicine of Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

ABSTRACT

The hypothesis tested was that the Alkaline Phosphatase (AF) activity was lower in the early group compared to the late group. The objective was to determine a reference for bone growth and use it to select models with late or early puberty. We evaluated the activity of the enzyme Alkaline Phosphatase (FA), Aspartate Amino Transferase (AST) and Alanine Amino Transferase (ALT) (liver-specific), a group on the calcium/phosphorus ratio (Ca:P) and the similar growth factor to insulin (IGF-1) in the serum of weaning animals from two partner farms. A total of 184 Nellore females (275.78 ± 35.36 kg) were used. As collected in the weaning management, between 6 and 12 months of age, the animals were collected, and the rump height was measured. Bone tissue measured by FA showed negative activity with height and weight ($-3.75 \text{ E } -1$ and $-422 \text{ E } -1$). For FA, Ca^{++} concentration and height were higher in the early group than in the late activities. FA cannot be an indication for precocity selection in Nellore females. More studies are needed to prove this result.

Keywords: Sexual precocity. Bone maturation. Phenotype.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Atividade sérica de FA em meninas normais em função da idade. A linha contínua é o valor médio, enquanto a área pontilhada representa os limites de referência de 5% e 95% para atividade de FA no osso. As linhas cortadas são os limites de referência da atividade sérica de FA em meninas normais em função da idade. A linha contínua é o valor médio, enquanto a área pontilhada representa os limites de referência de 5% e 95% para atividade de FA no osso. As linhas cortadas são os limites de referência de 5% e 95% para atividade de FA no fígado. Antes da puberdade a enzima óssea representa 77-87% do total. A atividade aumenta em crianças em torno da idade à puberdade, sendo o máximo mais precoce. Em adultos saudáveis, a proporção de atividade óssea e hepática é de cerca de 1: 1. Fonte: Adaptado de CALVO, et al, 19.

.....17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Atividade da Aspartato Amino Transferase (AST), Alanino Amino Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P), altura na garupa e peso em novilhas Nelore precoces (prenhes aos 16 meses) ou novilhas tardias (não prenhe após 3 protocolos de IATF). Os dados foram comparados pelo teste de Tukey. Comparativo das médias e erro padrão dos grupos precoce e tardio.21

Tabela 2 - Correlação entre as variáveis estudadas IGF-I, Aspartato Amino Transferase (AST), Alanino Amino Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P), altura na garupa e peso em novilhas Nelore precoces (prenhes aos 16 meses) ou novilhas tardias (não prenhe após 3 protocolos de IATF).22

Tabela 3 - Modelo linear completo de todas as variáveis em relação ao efeito de fazenda, idade, touro e grupo (precoce e tardia) em novilhas Nelore precoces (prenhes aos 16 meses) ou novilhas tardias (não prenhe após 3 protocolos de IATF).. Modelo simples mostra a variação do grupo em relação as variáveis estudadas.23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	Fatores que influenciam a idade a puberdade de Novilhas Nelore.....	15
2.2	Crescimento ósseo e puberdade.....	16
3	MATERIAL E MÉTODO.....	18
3.1	Local do experimento e animais.....	18
3.2	Coleta das amostras.....	19
3.3	Quantificação hormonal e enzimática.....	19
3.4	Estatística.....	20
4	RESULTADOS.....	20
4.1	Diferença entre as médias dos grupos precoce e tardia.....	20
4.2	Correlações.....	21
4.3	Modelos lineares.....	22
5	DISCUSSÃO.....	23
6	CONCLUSÃO.....	25
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo o principal exportador de carne em toneladas e em faturamento. Em 2019, o PIB da Pecuária de Corte cresceu 3,5%, movimentando bilhões de reais no setor do agronegócio. Com o mercado valorizado, pecuaristas estão investindo em tecnologias na nutrição, sanidade e genética (ABIEC, 2020). Outro fator importante é a reprodução, devido ao impacto que a precocidade sexual representa no desempenho lucrativo da bovinocultura de corte.

De acordo com a Associação de Criadores de Zebu, a idade média ao primeiro parto em Nelore é de 38 ± 5 meses (ABCZ, 2016). A pecuária tradicional se encaixa no que chamamos de ciclo vicioso, onde a estação de monta é longa, bezeros desmamados tarde, alta taxa de lotação na fazenda nas secas, vaca magra por falta de pastagens e entrada de animais para recria com peso abaixo do esperado. Porém, em fazendas que realizam a seleção para precocidade sexual, fazem o ciclo virtuoso, as novilhas emprenham entre 15 e 18 meses, parem mais cedo e possuem mais chance de produzir um maior número de progênie em comparação com fêmeas tardias (PEREIRA et al., 2000).

A puberdade está diretamente relacionada ao peso corporal, geralmente ocorre quando elas atingem 65 a 70% do peso adulto. Novilhas prenhes aos 17/18 meses foram mais pesadas, e tiveram melhor condição corporal, em comparação com as falhadas (SEMMELMANN et al., 2001). Correlações genéticas baixas e positivas foram estimadas entre idade ao primeiro parto e peso, sugerindo que as fêmeas com maior peso e estatura devem apresentar puberdade tardia (LACERDA et al., 2018). Por outro lado, Baldi et al. (2008) e Boligon et al. (2008), encontraram correlação negativa -0,17, -0,31, respectivamente, indicando que animais que atingirem peso e tamanho corporal mais cedo entram em puberdade primeiro.

Segundo Horimoto et al., (2005), vários estudos relatam efeitos negativos no desempenho reprodutivo de vacas com frame mais elevado, sendo assim, o que difere um animal com frame alto ou baixo é a velocidade da maturação óssea, ou seja, animais com o frame baixo interrompem mais cedo o crescimento ósseo.

O objetivo desse trabalho foi determinar uma referência da diminuição do crescimento ósseo e utilizá-la para seleção de fêmeas com puberdade tardia ou precoce. A comprovação da hipótese estabelecida possibilitará validar mais uma

ferramenta para antecipar a seleção de fêmeas quanto à precocidade sexual, com importante impacto positivo para a cadeia produtiva do gado de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fatores que influenciam a idade a puberdade de Novilhas Nelore

A raça Nelore tem como principais características a rusticidade, adaptabilidade e resistência, as fêmeas eram conhecidas por entrar em reprodução tardiamente, após os 24 meses. No entanto, com o avanço das tecnologias ligadas a reprodução, é sabido que a raça Nelore possui animais precoces, e a utilização e multiplicação desses genes voltados à precocidade em um rebanho são essenciais para a manutenção de uma pecuária cada vez mais rentável (ANDRADE et al., 2020).

Para que todo valor genético possa ser expressado, é necessário atentar a fatores hormonais, nutricionais e de condição corporal. Santos (1998), ressalta dentre todos os fatores, a nutrição como a de maior impacto para a precocidade sexual, as novilhas atingem a puberdade quando alcançam cerca de 65% a 70% do peso adulto. Isso porque os pulsos de GnRH e LH, são regulados através do ganho de peso. O aumento na secreção de LH proporciona uma melhora na vascularização folicular, aumentando a concentração de estradiol e induzindo o pico de LH em função do feedback positivo no hipotálamo culminando com a ovulação e luteinização do folículo em fase de dominância (CARDOSO et al., 2018).

Ferraz et al., (2017), mostraram que independente da alimentação, somente filhas de touros com DEP favorável para idade ao primeiro parto atingiram puberdade aos 18 meses, principalmente pelas diferenças de IGF1 e Leptina. Em condições de nutrição inadequada, um conjunto de genes são responsáveis pela manutenção metabólica, permitindo que as novilhas continuem crescendo e atinjam seu potencial genético (MOTA et al., 2020)

2.2 Crescimento ósseo e puberdade

Um processo chamado ossificação endocondral, que ocorre na placa de crescimento, faz com que a cartilagem do osso seja formada e depois remodelada a tecido ósseo (NILSSON et al., 2005). Constituído basicamente por minerais e matriz orgânica, o tecido ósseo é formado por diversas células, dentre elas existem os osteoblastos, que produzem e calcificam a matriz óssea através de um mecanismo secreção de pequenas vesículas ricas em fosfatase alcalina, durante o crescimento (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima de membrana celular, encontrada em células do fígado, túbulos renais, intestino e tecido ósseo. Em animais jovens em fase de crescimento pode apresentar-se com atividade elevada devido ao alto metabolismo (BARINI, 2007). De acordo com Motta (2008), nos ossos a atividade da FA está confinada aos osteoblastos onde ocorre a formação óssea, sua atividade no sorosanguíneo estará aumentada até que o processo de formação óssea se conclua. A medição desse marcador ósseo no soro ou plasma, não é invasiva, de baixo custo e pode ser repetida frequentemente (CROFTON, 2011; WATTS, 1999).

Vale ressaltar que a FA óssea está mais predominante do nascimento até a puberdade (WATTS, 1999). Os principais fatores que alteram a atividade da FA são: idade, sexo e estado hormonal. A maior atividade dessa enzima em meninas foi entre 9-10 anos de idade e em meninos 13-14 anos, está diretamente ligada com o crescimento ósseo (altura) e peso, sendo que após a puberdade os valores (U/L) permaneceram constantes, como visto na Figura 1 (HOOF et al., 1990; CALVO et al. 1996).

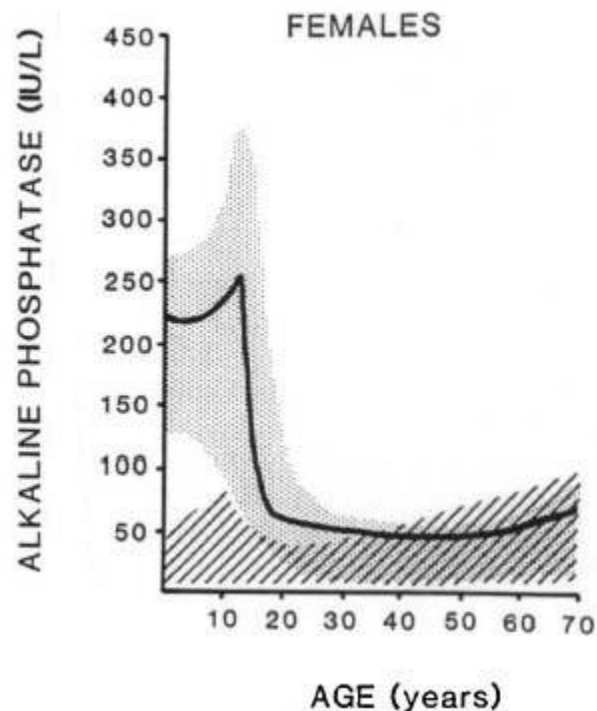


Figura 1- Atividade sérica de FA em meninas normais em função da idade. A linha contínua é o valor médio, enquanto a área pontilhada representa os limites de referência de 5% e 95% para atividade de FA no osso. As linhas cortadas são os limites de referência da atividade sérica de FA em meninas normais em função da idade. A linha contínua é o valor médio, enquanto a área pontilhada representa os limites de referência de 5% e 95% para atividade de FA no osso. As linhas cortadas são os limites de referência de 5% e 95% para atividade de FA no fígado. Antes da puberdade a enzima óssea representa 77-87% do total. A atividade aumenta em crianças em torno da idade à puberdade, sendo o máximo mais precoce. Em adultos saudáveis, a proporção de atividade óssea e hepática é de cerca de 1: 1. Fonte: Adaptado de CALVO, et al, 19.

A exposição precoce ao estrogênio, como na puberdade precoce, acelera a maturação esquelética, causando fechamento da placa epifisária prematura e diminuição da estatura final (NILSSON et al., 2005). Alpdogan et al. (2012) verificou através de exames radiográficos da tíbia-fíbula que cabras atingiram o fechamento epifisário aos 14 meses, momento em que esses animais cessaram o crescimento ao atingirem o limiar de ganho de peso e entraram em puberdade.

Outro estudo também avaliou o fechamento do disco epifisário por exames radiográficos, no metacarpo de fêmeas Nelore, o objetivo era selecionar animais precoces através da maturidade óssea. Obteve correlação negativa entre densidade óssea e o peso corporal, as fêmeas que apresentaram maiores taxas de aumento da densidade óssea foram aquelas que começaram a reduzir a taxa de ganho de peso mais cedo. O fechamento completo da placa epifisária ocorreu aos 15 meses e os animais que não apresentaram redução no processo de maturidade óssea foram mais tardios e mais altos (ZULIM, 2005).

Medidas de peso, escore de condição corporal e altura de garupa apresentaram correlações positivas entre si, conforme Abud et al., (2018), podem ser utilizadas como ferramentas para seleção de precocidade sexual, além de serem características de fácil aplicação e baixo custo.

3 MATERIAL E MÉTODO

Todos os procedimentos experimentais realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” da Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba processo 663/19.

3.1 Local do experimento e animais

O experimento foi realizado em duas propriedades: Fazenda Vale da Natureza, em Pontes e Lacerda-MT, e Fazenda Santa Luzia, Getulina-SP. A fazenda Vale da Natureza faz parte do programa de melhoramento genético PMGZ e ANCP, utiliza ferramentas para seleção de precocidade como desafio de novilhas aos 14 meses, abate de animais que não emprenham na primeira IATF além da seleção de reprodutores através de DEPs para precocidade. A Fazenda Santa Luzia faz parte do programa de melhoramento genético da Deltagen, também realiza o desafio para precocidade. As atividades foram realizadas de maio de 2019 a setembro de 2020.

Foram utilizadas 184 fêmeas da raça Nelore desmamadas, com média de 11 meses de idade e peso de $275,78 \pm 35,36$ kg. As quantificações hormonais e de cálcio e fósforo, bem como as avaliações das atividades enzimáticas foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia da Unesp – Câmpus de Araçatuba e no Hospital Veterinário do UniSalesiano de Araçatuba.

Os animais foram divididos em dois grupos: precoce e tardio de acordo com a taxa de prenhez após inseminação artificial. No grupo precoce (n=132) foram as fêmeas que emprenharam na primeira IATF de ambas as fazendas com média de $16 \pm 1,35$ meses de idade. No grupo tardio (n=52), foram as fêmeas que não ficaram prenhes após três IATF's, iniciadas aos $16 \pm 0,89$ meses.

3.2 Coleta das amostras

As amostras foram coletadas durante a desmama. Na Fazenda Vale da Natureza foi coletado em Julho de 2020 e na Fazenda Santa Luzia em Abril de 2019. Uma amostra sangue foi coletada em tubos de ensaio com EDTA +NaF (6 mg+12mg; BD Vacutainer®), sendo armazenado sob refrigeração a 4°C até centrifugação. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 15 min para obtenção do plasma, que foi aliquoteado em criotubos em duplicata. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C até a quantificação hormonal.

A pesagem foi feita através de balança comercial Tru-Test® acoplada ao tronco de contenção. E a altura foi mensurada em centímetros com o auxílio de um hipômetro, medida da ponta do íleo até o solo.

3.3 Quantificação hormonal e enzimática

A concentração de IGF-I foi obtida através de ensaio imunoenzimático competitivo (cELISA) "in house", descrito por Maioli e Nogueira, (2017). Para esses ensaios foram calculados o coeficiente de variação interensaio (Controle Alto 15,08% Controle Baixo: 22,90%), intraensaio (Controle Alto 8,76% Controle Baixo: 10,90%) e os limites de detecção e quantificação foram de 2,94 e 8,92 ng/ml, respectivamente.

Para a mensuração de atividade da Aspartato Amino Transferase (AST), Alanino Amino Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA) e a concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P), foi utilizado o método colorimétrico através dos kits comerciais da Bioclin®. A colorimetria é um método de análise quantitativa que se baseia na comparação da cor produzida por uma reação química com uma cor padrão. De acordo com a intensidade da cor produzida, infere-se a atividade da enzima presente na amostra.

O kit da Bioclin® utilizado para mensurar a atividade do AST foi o Transaminase (TGO)- KO34. A transaminase catalisa a transferência do grupo Amino, onde o Oxalacetato reage com a Dinitrofenilhidrazina, a intensidade de coloração da Hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de Oxalacetato presente no soro. Para mensurar a atividade da ALT foi utilizado o kit Transaminase (TGP)-K035, que reage quase da mesma forma que o

kit da AST, o Piruvato tem reação com a Dinitrofenilhidrazina, a intensidade de coloração da Hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de Piruvato na amostra.

Para mensurar a concentração de cálcio foi utilizado o kit Cálcio Arsenazo III – K051, onde o cálcio reage com o arsenazo III em meio ácido formando o complexo de coloração azul, a intensidade é proporcional à concentração de cálcio na amostra. Para mensurar o fósforo, foi utilizado o kit K020 onde o fósforo inorgânico reage com o molibdato de amônio, formando fosfomolibdato de Amônio, que posteriormente é reduzido a azul de molibdênio, cuja intensidade de cor desenvolvida é proporcional à concentração de fósforo presente na amostra.

3.4 Estatística

As comparações das variáveis FA, IGF-I, Ca, P, ALT, AST, altura de garupa e peso entre os grupos precoce e tardio, foram realizadas pelo teste de Tukey. Os resultados das análises estatísticas foram apresentados como média e erro padrão e foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A matriz de correlação de Pearson, mediu o grau de relação linear entre as variáveis estudadas. O modelo linear completo foi utilizado para avaliar cada variável em relação ao ambiente (fazenda), grupo precoce ou tardio, idade e influência do touro. Já o modelo linear simples, foi utilizado para avaliar cada variável em relação ao grupo precoce ou tardio.

De acordo com o teste de normalidade Shapiro-Wilk, os resíduos foram considerados normais. As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa R.

4 RESULTADOS

4.1 Diferença entre as médias dos grupos precoce e tardia

Foi possível constatar que a atividade da FA foi maior nas novilhas precoces, enquanto que a concentração de Ca e a Altura de garupa foi maior nas novilhas

tardias (Tabela 1).

Tabela 1- Atividade da Aspartato Amino Transferase (AST), Alanino Amino Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P), altura na garupa e peso em novilhas Nelore precoces (prenhes aos 16 meses) ou novilhas tardias (não prenhe após 3 protocolos de IATF). Os dados foram comparados pelo teste de Tukey. Comparativo das médias e erro padrão dos grupos precoce e tardio.

	Precoce	Tardia	P-VALOR
FA U/L	118,14±6,02	90,33±8,02	1,10 E -2*
IGF-1 (ng/mL)	250,32±6,99	247,05±12,73	8,11 E -1
Ca (mg/dL)	13,19±0,68	17,51±1,24	1,41 E -3*
P (mg/dL)	10,30±0,13	10,68±1,42	1,27 E -1
ALT U/L	10,90±0,39	11,66±0,54	2,88 E -1
AST U/L	16,29±0,58	16,61±0,85	7,62 E -1
ALT.GARUPA (m)	1,31±0,0038	1,32±0,005	4,54 E -2*
PESO (kg)	274,36±3,18	279,40±4,48	3,84 E -1

* p<0,05

4.2 Correlações

As correlações entre as características mensuradas foram classificadas, de forma subjetiva, em fracas (<|0,3|) e médias (entre |0,3| e |0,7|) sendo que algumas são positivas enquanto outras são negativas (Tabela 2). As correlações de maior valor absoluto observadas foram entre o peso e a altura de garupa, correlação positiva (5,18 E -1). Altura de garupa e peso tiveram correlação negativa e moderada com FA (-3,75 E -1 e -4,22 E -1), respectivamente.

Tabela 2 - Correlação entre as variáveis estudadas IGF-I, Aspartato Amino Transferase (AST), Alanino Amino Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P), altura na garupa e peso em novilhas Nelore precoces (prenhes aos 16 meses) ou novilhas tardias (não prenhe após 3 protocolos de IATF).

	IGF-1	CA	P	ALT	AST	ALT.GARUPA	PESO
FA	9,25 E -2	-1,31 E -1	2,65 E -2	-2,26 E -2	1,80 E -1	-3,75 E -1	-4,22 E -1
IGF-1		6,55 E -2	9,17 E -3	-7,14 E -2	-3,92 E -2	5,15 E -2	1,22 E -1
CA			-1,16 E -1	7,99 E -2	3,44 E -2	7,64 E -2	1,41 E -1
P				1,12 E -2	4,30 E -2	-6,45 E -2	-6,98 E -2
ALT					1,64 E -1	1,04 E -1	1,03 E -1
AST						-8,02 E -3	-1,58 E -1
ALT.GARUPA							5,18 E -1

4.3 Modelos lineares

Modelo linear completo consiste na análise de todas as variáveis em relação ao ambiente (fazenda), idade, touro e grupo estudado (precoce e tardia). Já no modelo linear simples, observamos somente a variação do grupo precoce e tardia em relação as mesmas variáveis.

Observamos que tanto no modelo completo quanto no simples, FA foi significativa. No modelo completo a AST e peso também foi sigificativo. O grupo precoce e tardia são fatores significantes na variação de altura de garupa e cálcio.

A variação entre peso e altura de garupa estão associados (3,16 E-05

Tabela 3 - Modelo linear completo de todas as variáveis em relação ao efeito de fazenda, idade, touro e grupo (precoce e tardia) em novilhas Nelore precoces (prenhes aos 16 meses) ou novilhas tardias (não prenhe após 3 protocolos de IATF). Modelo simples mostra a variação do grupo em relação as variáveis estudadas.

	MODELO COMPLETO				MODELO SIMPLES	
	t-valor	p-valor	t-valor (grupo prenhez)	p-valor (grupo prenhez)	t-valor	p-valor
FA	2,36 E 0	1,94 E -2*	8,51 E-1	3,96 E-1	2,56 E 0	1,10 E-2*
IGF-1	1,88 E 0	6,12 E-2	8,33 E-1	4,06 E-1	2,39 E-1	8,11 E-1
CA	8,58 E-1	3,92 E-1	-1,44 E 0	1,50 E-1	-3,24 E 0	1,41 E-3*
P	-1,34 E 0	1,80 E-1	-1,33 E 0	1,84 E-1	-1,53 E 0	1,27 E-1
ALT	9,34 E-1	3,52 E-1	-1,32 E 0	1,87 E-1	-1,06 E 0	2,88 E-1
AST	2,26 E 0	2,48 E-2*	-1,30 E 0	1,93 E-1	-3,03 E-1	7,62 E-1
ALT.	1,23 E 0	2,18 E-1	-5,79 E -1	5,63 E-1	-2,01 E 0	4,54 E-2*
GARUPA						
PESO	3,77 E 0	2,32 E -4*	8,89 E-1	3,71 E-1	-8,71 E-1	3,85 E-2

* p<0,005

5 DISCUSSÃO

Foi possível observar que a atividade do tecido ósseo mensurada através da fosfatase alcalina (FA) foi maior no grupo precoce que nas tardias, podemos prever que elas possuem um crescimento acelerado por serem precoces. Na literatura é escasso os trabalhos entre FA e puberdade em bovinos. Em humanos, a atividade da FA foi maior em meninas entre 15-16 anos na fase que atingiram a puberdade, comparado com meninos (MAGNUSSON et al., 1995). Outro trabalho mostrou que não houve diferença entre meninos e meninas, porém a atividade mais alta da FA sérica também foi observada na fase púbere (TURAN et al., 2011). Conforme analisado na Tabela 1, podemos observar que a maior atividade da FA (1,10 E -2) foi no grupo precoce, que engravidaram no início da estação de monta em média com 16 meses de idade.

Na Tabela 2, observamos correlação negativa moderada entre FA e peso. No grupo precoce enquanto a atividade da FA era maior, o peso diminuiu, em comparação com o grupo tardio. Já em um estudo realizado em potros puro-sangue, todos os marcadores de formação óssea diminuíram com o aumento do peso corporal (PRICE

et al., 2001). Nesse estudo as coletas foram realizadas na desmama, presupomos que ao chegarem a puberdade os níveis da atividade óssea serão mais baixos, dessa forma, atingem um peso maior mais cedo, indicando que essa fêmea é, de um modo geral, mais precoce. Pereira et al. (2010), enfatizaram que animais com desenvolvimento precoce entram em reprodução mais cedo, reduzindo a idade ao primeiro parto.

Neste estudo, foi observada correlação entre peso e altura (Tabela 2 e 3). Correlação positiva também foram encontradas por Abud et al. (2018). Uma prática muito comum nos rebanhos é adoção do peso como fator de seleção para entrar em estação de monta. Outro fator de escolha dos programas de melhoramento genéticos, é a busca por animais com frame mais baixos. Os animais que são altos normalmente são tardios, pois demoram mais para atingir o peso adulto. A correlação entre a atividade da FA e altura observado nesse estudo sugere que a atividade do tecido ósseo não cessou quando o animal entrou em puberdade, porém permitiu que ele atingisse a puberdade primeiro que os animais mais altos. Correlações positivas altas entre altura e escores de condição corporal associando a puberdade foram relatados por Freitas et al., (2011), Koury Filho et al., (2009). Condição de escore corporal é um preditor do estado reprodutivo da vaca (PATERNO et al., 2014). Nas raças Angus, Brahman, Hereford, Holstein e Jersey as características reprodutivas e de crescimento também estão relacionadas ao peso e altura (BAKER et al., 1988).

A idade média da primeira gestação das novilhas deste experimento foi de 16 meses, valores próximos aos relatados por Semmelmann et al., (2001) que relataram um intervalo de idade entre 17 e 18 meses, já Freitas et al., (2021) relataram taxa de prenhez aos 14 meses, esses resultados estão bem abaixo da média nacional da raça Nelore que está acima de 26 meses. Em relação ao peso, Semmelmann et al., (2001) obtiveram média de peso de 275kg para o grupo precoce e 258,53kg para o grupo tardio, este resultado é semelhante com o grupo precoce, o peso foi de 274,36kg enquanto para o grupo tardio foi de 279,40kg, essa diferença a mais para o grupo tardio, explica a utilização de fazendas que fazem pressão de seleção há alguns anos, selecionando para ganho de peso e precocidade. Também pode ter influenciado fatores ambientais em relação aos meses da coleta, em uma fazenda foi feita em Julho e na outra fazenda em Abril.

A principal questão que se pretendia com esse estudo foi buscar uma forma de avaliação da atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo ósseo (FA) para

conseguir uma referência de crescimento ósseo e utilizá-la para seleção de fêmeas com puberdade tardia ou precoce. Conforme os resultados, negamos a hipótese inicial de que a atividade da FA estaria menor nas precoces, mais estudos precisam ser realizados para assim termos uma nova ferramenta de seleção para precocidade.

6 CONCLUSÃO

A baixa atividade da fosfatase alcalina (FA) na desmama não está associada a precocidade sexual em novilhas Nelore. Entretanto, mais estudos devem ser realizados avaliando outras idades, buscando um momento em que haverá diminuição da atividade da mesma em novilhas com puberdade precoce.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCZ 2016. Sumário de touros da Associação Brasileira dos Criadores de Zebuínos (ABCZ). Acesso em 06/02/. Disponível em: <https://www.abczstat.com.br/comunicacoes/sumario/apresentacao/Sumario-racas-NEL.htm>.
- ABIEC 2020. Perfil da pecuária no Brasil. Relatório Anual. Acesso em: 04/09/2020. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/>.
- ABUD, LJ; ABUD, COG; COSTA, GL; FIORAVANTI, MCS; MARTINS, CF; PIMENTEL, CMM; SERENO, RB. Correlation between age, weight and body measures at first pregnancy of Nelore heifers. Archives of Veterinary Science, v.23, n.3, p.80-88, 2018.
- ALPODOGAN, O; GENÇCELEP, M. Determination of the closure time of growth plates of tibia-fibula in Colored Mohair Goats kids by radiography. Asia Journal of animal and Veterinary Advances, 7(9), p. 860-867, 2012.
- ANDRADE, EF; FERREIRA, DF; SANTOS, PEF; FILHO, AE. Principais fatores que afetam a precocidade de novilhas Nelore e a classificação do sistema de produção precoce: uma revisão. RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 2, n. 3, set/dez 2020. ISSN: 2674-9270. Disponível em: <http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital>
- BALDI, F; ALENCAR, MM; FREITAS, AR; et. al. Parâmetros genéticos para características de tamanho e condição corporal, eficiência reprodutiva e longevidade em fêmeas da raça Canchim. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, n. 2, p. 247-253, 2008.
- BARINI, AC. Bioquímica sérica de bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça curraleiro de diferentes idades. 2007. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás.
- BAKER, JF.; STEWART, TS.; LONG, CR.; CARTWRIGHT, TC. Regressão Múltipla e Análise de Componentes Principais da Puberdade e Crescimento em Bovinos, Journal of Animal Science , Volume 66, Issue 9, September 1988, Pages 2147–2158 (1988).
- BOLIGON, AA; ALBUQUERQUE, LG; RORATO, PRN. Associações genéticas entre pesos e características reprodutivas em rebanhos da raça Nelore. Rev BrasZootec , 37 (2008) , pp. 596 601
- Bioclin®. Disponível em: <http://www.bioclin.com.br/>. Acesso em: 28/03/2018.
- BUTTRAM, ST.; WILHAM, RL. Size and management effects on reproduction in first-, second-and third parity beef cows. J. Anim. Sci., v.67, p.2191-2196, 1989.
- CARDOSO, R. C.; ALVES, B. R.C.; WILLIAMS, G. L. Neuroendocrine signaling pathways and the nutritional control of puberty in heifers. Animal Reproduction, v.15, n.1, p.868-878. 2018.

CROFTON, PM. Bone Metabolites. Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents, ed 4. Basel, Karger, 2011, pp 429–447.

FERRAZ, MVC; PIRES, AV; SANTOS, MH; SILVA, RG; OLIVEIRA, GB; POLIZEL, DM; BIEHL, MV; SARTORI, R; NOGUEIRA, GP. A combination of nutrition and genetics is able to reduce age at puberty in Nelore heifers to below 18 months. *The Animal Consortium* (2017) 69–574.

FREITAS, BG.; MINGOTI, RD.; MONTEIRO, BM.; GUERREIRO, BM.; CREPALDI, GA.; RAMOS, L.; VASCONCELLOS, FM.; FILHO, MFS.; D'OCCHIO, MJ.; BARUSELLI, PS. Relationship of body maturation with response to estrus synchronization and fixed-time AI in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Livestock Science* 251 (2021).

FREITAS, AR; SOUZA, JF; MOREIRA, A. Predição da precocidade sexual em bovinos da raça Nelore por meio de componentes principais. *Rev. Ci. Agra.*, v.54, n.2, p.153-158, Mai/Ago (2011).

HORIMOTO, ARVR. Estimativas de parâmetros genéticos para escores de estrutura corporal (frame) em bovinos de corte da raça Nelore. Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2005

JUNQUEIRA E CARNEIRO. *Histologia Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. Décima edição.

LACERDA, VV; CAMPOS, GS; ROSO, VM; SOUZA, FRP; BRAUNER, CC; BOLIGON, AA. Effect of mature size and body condition of Nelore females on the reproductive performance. *Theriogenology*. Volume 118, 2018, P. 27-33.

MAIOLI, M.A.; NOGUEIRA, G.P. Padronização da quantificação do fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I) em plasma bovino por ELISA. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, p. 1545-1553, 2017.

MAGNUSSON, P.; HAGER, A.; LARSSON, L. Serum osteocalcin and bone and liver alkaline phosphatase isoforms in healthy children and adolescents. *Pediatr Res*. 1995 Dec;38(6):955-61

MOTTA, VT. *Bioquímica Clínica: Princípios e Interpretações*. V.9. 2008

MOTA, LFM, LOPES, FB, FERNANDES JUNIOR, GA et al. A varredura de todo o genoma destaca o papel dos genes candidatos na plasticidade fenotípica para a idade ao primeiro parto em novilhas Nelore. *Sci Rep* 10, 6481 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63516->

Nilsson O, Marino R, De Luca F. Endocrine regulation of the growth plate. *Horm Res* 2005;64(4):157–65.

PATERNO, FM.; FERNANDES, AFA.; NEVES, HHR.; CARVALHEIRO, R.; OLIVEIRA, JA.; QUEIROZ, SA. Genetic Parameters of Body Condition Score and Reproductive

Traits of Nelore Cows. Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production. of São Paulo State, Jaboticabal, São Paulo, Brazil (2014).

PEREIRA, E; ELER, JP; FERRAZ, JBS. Correlação genética entre perímetro escrotal e algumas características reprodutivas na raça Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.6, p.1676-1683, 2000.

PRICE, J. S.; JACKSON, B. F.; GRAY, J. A.; HARRIS, P. A.; WRIGHT, I. M.; PFEIFFER, D. U.; ROBINS S. P.; EASTELL, R.; RICKETTS, S. W. Biochemical markers of bone metabolism in growing thoroughbreds: a longitudinal study. *Research in veterinary science*, 71(1), 37–44 (2001).

SANTOS, J. E. P. Parâmetros de eficiência reprodutiva. Anais do 3º Congresso Brasileiro de Raças Zebuínas. Uberaba, 1998. 39 p.

SEMMELMANN, CEN; LOBATO, JF; ROCHA, MG. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. *R. Bras. Zootec.*, v.30, n. 3, p. 835-843, 2001.

TURAN, S.; TOPCU, B.; GOKÇE, İ.; GURAN, T.; ATAY, Z.; OMAR, A.; AKÇAY, T.; BEREKET, A. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z-scores in different types of rickets. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, 3(1), 7–11, 2011.

ZULIM, RMI. Estudo do crescimento ósseo de bovinos da raça Nelore até 24 meses de idade: padronização e correlação da densidade mineral óssea (DMO) do III metacarpo com sexo, idade e peso. Dissertação Mestrado. Unesp, campus Botucatu.2005.

WATTS, NB. Clinical Utility of Biochemical Markers of Bone Remodeling. *Clinical Chemistry* 45:8(B). 1359–1368 (1999).

KOURY FILHO, W.; ALBUQUERQUE, L.G.; ALENCAR, M.M. et al. Estimativas de herdabilidade e correlações para escores visuais, peso e altura ao sobreano em rebanhos da raça Nelore. *Rev. Bras. Zootec.*, v.38, p.2362-2367, 2009.