

Ingestão de concentrado e concentração plasmática de progesterona em vacas da raça Holandesa

[Concentrate intake and plasmatic progesterone concentration in Holstein cows]

R.M. Santos^{1,3}, J.L.M. Vasconcelos^{2*}

¹Aluna de pós-graduação-FCAV-UNESP – Jaboticabal, SP

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP
Caixa Postal 560

18618-000 – Botucatu, SP

³Bolsista da FAPESP

RESUMO

Vacas da raça Holandesa não-lactantes (n=7), que receberam 4kg/dia de concentrado durante 28 dias e pasto *ad libitum*, foram sincronizadas com protocolo Ovsynch. No dia 0 (segunda aplicação de GnRH), as vacas foram distribuídas em dois grupos: as do grupo 2kg receberam 2kg/dia, e as do grupo 8kg receberam 8kg/dia de concentrado, oferecido duas vezes/dia. Os animais foram sincronizados novamente na fase 2. Aqueles que receberam 2kg de concentrado na primeira fase passaram a receber 8kg na segunda fase e vice-versa. As estruturas ovarianas foram avaliadas diariamente por ultra-sonografia. Amostras de sangue para dosagem de progesterona (P4), por radioimunoensaio, foram colhidas diariamente, antes do fornecimento do concentrado e quatro horas depois, até o dia 16 do ciclo estral. Não houve diferença entre os grupos quanto ao diâmetro do folículo ovulatório no dia 0 e ao diâmetro do maior folículo no dia 16. O diâmetro do corpo lúteo foi maior (P<0,05) no dia 16 nos animais do grupo 8kg. Observou-se interação (P<0,05) da quantidade de concentrado fornecida *versus* dia da colheita das amostras quanto à concentração plasmática de P4. A concentração plasmática de P4, imediatamente antes do fornecimento do concentrado e quatro horas depois, foi menor no grupo 8kg, após o dia 9 do ciclo estral.

Palavras-chave: vaca de leite, progesterona, ingestão de concentrado

ABSTRACT

Non-lactating Holstein cows (n=7) fed 4kg/day of concentrate for 28 days and kept on pasture were synchronized by Ovsynch protocol. On day 0 (day of 2nd GnRH injection), the cows were distributed in two groups: Group2 = 2kg/day and Group8 = 8kg/day of concentrate, fed twice a day. One replicate was performed (phase 1 and 2). Animals were synchronized again at the beginning of phase-2 and those that fed 2kg of concentrate on phase-1, fed 8kg on phase-2 and vice-versa. The ovarian structures were daily evaluated by ultrasound. Blood samples for progesterone (P4) dosage by RIA were collected daily, just before feeding the concentrate and 4 hours afterwards, until day 16 of the estrous cycle. No difference was detected between the groups in ovulatory follicle diameter on day 0 and in diameter of the largest follicle on day 16. The CL diameter was higher (P<0.05) in Group 8 on day 16 of the estrous cycle. There was an interaction (P<0.05) between the amount of concentrate intake and the day of blood sampling regarding P4 plasma concentration. Cows from Group 8 showed lower P4 plasma concentration, just before feed intake and four hours afterwards, after day 9 of the estrous cycle.

Keywords: dairy cow, progesterone, concentrate intake

Recebido em 9 de setembro de 2005

Aceito em 31 de agosto de 2006

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: vasconcelos@fca.unesp.br

INTRODUÇÃO

A produção de leite por vaca tem aumentado nas últimas décadas devido à seleção genética para essa característica e ao melhor manejo nutricional oferecido aos animais. No entanto, tem-se observado declínio na eficiência reprodutiva de vacas leiteiras de alta produção (Butler, 1998; Washburn et al., 2002). Muitas podem ser as razões para essa redução da eficiência reprodutiva, incluindo diferenças no manejo reprodutivo e mudanças fisiológicas das vacas de alta produção (Lucy, 2001). Uma das características da vaca de alta produção é a maior ingestão de matéria seca (IMS), existindo uma relação ($r=0,88$) entre a IMS e a produção de leite (Harrison et al., 1990).

Efeitos deletérios da alta IMS na eficiência reprodutiva já foram citados por vários pesquisadores (Parr et al., 1987; Dunne et al., 1999). A redução da eficiência reprodutiva em animais com alta IMS pode ser atribuída às alterações na concentração dos hormônios circulantes. Sabe-se que há uma relação inversa entre IMS e concentração plasmática de progesterona (P4) em ovelhas (Parr et al., 1993a), vacas (Vasconcelos et al., 2003) e porcas (Miller et al., 1999) e já se observou que a maior IMS aumenta o fluxo sanguíneo para a veia porta hepática (Symonds e Prime, 1989; Parr et al., 1993b; Miller et al., 1999; Sangsritavong et al., 2002). Como o fígado é o local de maior metabolização de P4 e estradiol-17 β (Parr et al., 1993a; Freetly e Ferrell, 1994), estima-se que o aumento da IMS aumente a taxa de metabolização desses hormônios esteróides, pelo aumento do fluxo sanguíneo para o fígado.

O objetivo deste experimento foi avaliar os efeitos da ingestão de diferentes quantidades de concentrado por dia sobre a concentração plasmática de progesterona nos primeiros 16 dias do ciclo estral, em vacas não-lactantes da raça Holandesa.

MATERIAL E MÉTODOS

Sete vacas da raça Holandesa, não-lactantes, submetidas a um período de adaptação de 28

dias, visando ao desenvolvimento das papilas do rúmen, foram alimentadas com 4kg de concentrado por dia, à base de farelo de milho (60%), farelo de soja (34,5%), uréia (1,2%) e premix mineral (4,2%) cuja composição foi: 73% de NDT; 22% de PB e 10,5% de FDN.

Mantidos o tempo todo no pasto (MS-51,3%; PB-4,6%; EE-2,6%; FB-37,4%; NDT-54,3%; FDN-78,6%; FDA-43,2%), os animais foram sincronizados, inicialmente, com o protocolo *Ovsynch* modificado, que consistiu na aplicação de 100mcg de gonadorelina¹ via intramuscular (2ml), em dia aleatório do ciclo estral, seis dias depois da aplicação de duas doses de 25mg de PGF2 α ² via intramuscular (5ml), com 12 horas de intervalo entre elas, e aplicação de uma segunda dose de 100mcg de gonadorelina, 48 horas depois da primeira aplicação de PGF2 α . Durante o período de sincronização inicial, todas as vacas receberam 4kg/dia de concentrado.

No dia 0 (dia da segunda aplicação de GnRH), os animais foram distribuídos em dois grupos, de acordo com a quantidade de concentrado a ser fornecida diariamente, até o dia 16 do ciclo estral (2 vs. 8kg/dia de concentrado, grupos 2kg e 8kg, respectivamente). Foi realizada uma réplica do experimento (fases 1 e 2), e, no início da segunda fase, os animais foram sincronizados novamente. Os animais que na fase 1 receberam 2kg de concentrado/dia receberam 8kg na fase 2, e os que na fase 1 receberam 8kg de concentrado/dia receberam 2kg na fase 2.

Foram retirados da análise os dados de duas vacas da fase 1, que apresentaram cio antes do dia 16, e de um animal da fase 2, que não ovulou ao protocolo inicial de sincronização. Portanto, na fase 1 foram utilizados os dados de cinco animais, e na fase 2 os de seis. Nos do grupo 2kg foram considerados os dados de quatro animais, e nos do grupo 8kg foram considerados os dados de sete animais.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados para avaliar a ovulação ao protocolo de sincronização e para acompanhar a formação do corpo lúteo e o desenvolvimento folicular.

¹Cystorelin®, Merial Ltd., EUA

²Lutalyse®, Pfizer-Saúde Animal, Brasil

A partir do dia 0, foram colhidas duas amostras de sangue, diariamente, para dosagem de progesterona, uma pela manhã, antes do fornecimento do concentrado, e outra quatro horas depois. As amostras de sangue, colhidas da veia coccígea em tubos com vácuo e heparina, foram imediatamente colocadas no gelo em posição vertical. Após centrifugação a 1200g por 15 minutos e separação do plasma, procedeu-se a sua armazenagem a -20°C, até a realização das dosagens de progesterona.

As concentrações plasmáticas de P4 foram determinadas com *kit* de radioimunoensaio em fase sólida³, validado para o uso em vacas, e as amostras processadas em dois ensaios, com coeficiente de variação intra-ensaio de 5,1 e 5,6% e CV interensaio de 5,1%.

Para cada variável, testaram-se os dados quanto à normalidade dos resíduos e quanto à homogeneidade das variâncias. Se eles não atendiam às premissas para a análise, os dados foram transformados por raiz quadrada e reanalisados. As médias ajustadas foram reexpressas na escala original.

Os diâmetros do folículo ovulatório no final do protocolo inicial de sincronização, do corpo lúteo e do maior folículo no dia 16 do ciclo estral

foram analisados pelo procedimento GLM do SAS (User's..., 1988), sendo incluídos no modelo os efeitos de tratamento e fase e a interação tratamento x fase.

As concentrações plasmáticas diárias de P4, imediatamente antes do fornecimento do concentrado e quatro horas depois, foram analisadas pelo procedimento Mixed do SAS (User's..., 1988), sendo incluídos no modelo os efeitos fixos de quantidade de concentrado, fase e dia de colheita e as respectivas interações, além dos efeitos aleatórios de resíduo e de vaca, dentro de cada combinação de quantidade de concentrado e fase. Admitiu-se, para as medidas repetidas, um efeito auto-regressivo de primeira ordem. A variável concentração plasmática de P4 quatro horas após o fornecimento do concentrado foi analisada depois da transformação por raiz quadrada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se verificou diferença entre os grupos quanto ao diâmetro do folículo ovulatório ao final do protocolo de sincronização da ovulação e quanto ao diâmetro do maior folículo no dia 16 do ciclo estral (Tab. 1). Nesse dia, o diâmetro do corpo lúteo foi maior ($P<0,05$) nos animais do grupo 8kg.

Tabela 1. Média dos quadrados mínimos (\pm EPM) das variáveis diâmetro do folículo ovulatório, do corpo lúteo e do maior folículo, no dia 16 do ciclo estral, nas vacas que receberam 2kg ou 8kg de concentrado diariamente

Diâmetro (mm)	Média \pm EPM		Valor de P
	Grupo 2kg	Grupo 8kg	
Diâmetro do folículo ovulatório*	14,25 \pm 0,53a	13,81 \pm 0,38a	0,53
Diâmetro do corpo lúteo no dia 16	20,17 \pm 0,49a	21,60 \pm 0,32b	0,04
Diâmetro folicular no dia 16**	11,58 \pm 1,21a	11,40 \pm 0,80a	0,90

*No dia 0 do experimento; **do maior folículo no dia 16 do experimento. Valores seguidos por letras distintas na mesma linha diferem entre si ($P<0,05$).

Detectou-se interação quantidade de concentrado fornecida *versus* dia da colheita das amostras quanto à concentração plasmática de P4 imediatamente antes do fornecimento do concentrado ($P<0,05$). Esta foi menor nos animais do grupo 8kg em relação aos do grupo

2kg nos dias 10 (3,84 \pm 0,48 vs. 2,68 \pm 0,32ng/ml; $P<0,05$), 11 (4,09 \pm 0,48 vs. 2,90 \pm 0,32ng/ml; $P<0,05$), 14 (4,92 \pm 0,48 vs. 3,66 \pm 0,32ng/ml; $P<0,05$) e 16 do ciclo estral (5,8 \pm 0,48 vs. 3,74 \pm 0,32ng/ml; $P<0,001$; Fig. 1).

³ Coat a Count® - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA

Quatro horas após o fornecimento do concentrado, também foi observada interação quantidade de concentrado fornecida *versus* dia da colheita da amostra quanto à concentração plasmática de P4 ($P < 0,05$). Nas vacas do grupo 8kg, a concentração plasmática de progesterona foi mais baixa nos dias 9 ($3,98 \pm 0,49$ vs. $2,51 \pm 0,33$ ng/ml; $P < 0,05$), 10 ($4,59 \pm 0,49$ vs. $2,93 \pm 0,33$ ng/ml; $P < 0,05$), 11 ($4,44 \pm 0,49$ vs. $3,19 \pm 0,33$ ng/ml; $P < 0,05$), 14 ($5,37 \pm 0,49$ vs. $3,44 \pm 0,33$ ng/ml; $P < 0,01$), 15 ($6,05 \pm 0,49$ vs. $3,65 \pm 0,33$ ng/ml; $P < 0,01$) e 16 do ciclo estral ($5,93 \pm 0,49$ vs. $3,69 \pm 0,33$ ng/ml; $P < 0,01$) do que nas do grupo 2kg (Fig. 2).

O diâmetro do folículo ovulatório ao final do protocolo de sincronização foi semelhante entre os grupos (Tab. 1), porém, nos animais do grupo 8kg, observou-se CL de maior diâmetro no dia 16 do ciclo estral. Green et al. (2005) verificaram correlação positiva ($r = 0,66$) entre o peso do CL e a produção de P4, então, o esperado seria maior concentração plasmática de P4 nos animais do grupo 8kg, pois eles tinham CL de maior

diâmetro no dia 16. Isso não foi observado. No grupo 8kg, a concentração plasmática de P4 imediatamente antes do fornecimento do concentrado foi menor, e quatro horas depois (Fig. 1 e 2), provavelmente devido ao aumento do fluxo sanguíneo para o sistema digestivo e à conseqüente maior metabolização da progesterona, foi semelhante aos resultados de Parr et al. (1993a), observados em ovelhas, e de Vasconcelos et al. (2003), que utilizaram vacas.

Parr et al. (1993b) e Sangsritavong et al. (2002) relataram que o fluxo sanguíneo para a veia porta hepática está diretamente relacionado à IMS e que o fígado apresenta eficiência de 96% na metabolização da progesterona. Concluíram que o aumento do fluxo sanguíneo para o sistema digestivo, associado à alta eficiência do fígado em metabolizar a progesterona, explica as menores concentrações de progesterona associadas à maior ingestão de concentrado.

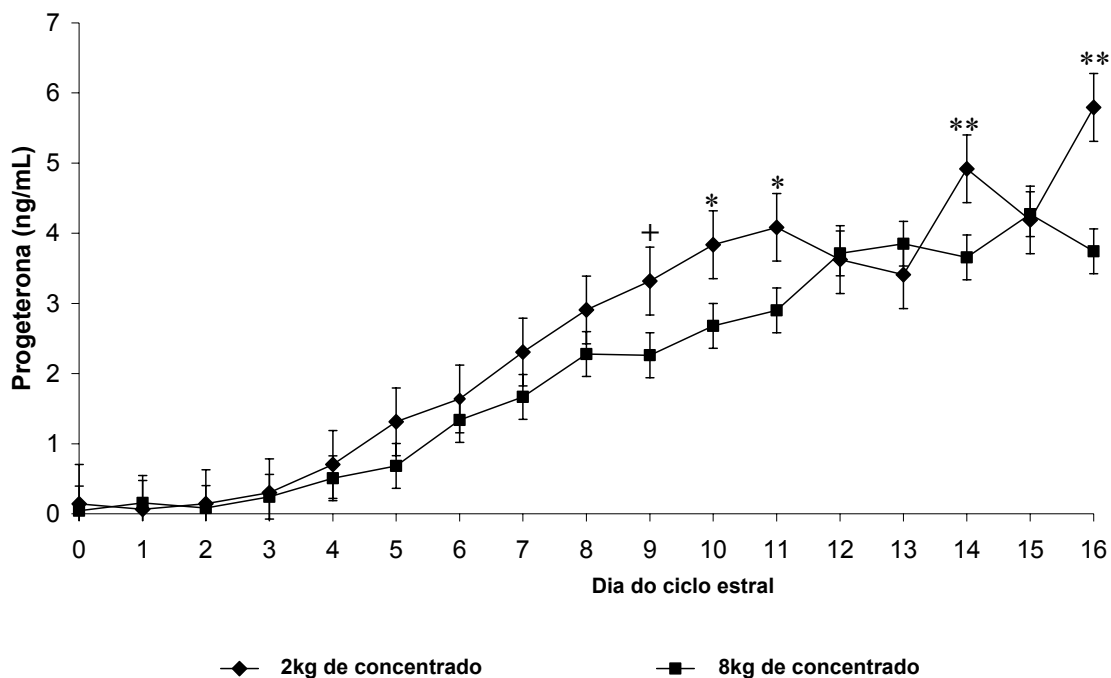


Figura 1. Concentração plasmática de progesterona (\pm EPM) durante os primeiros 16 dias do ciclo estral, imediatamente antes da ingestão da metade do concentrado fornecido diariamente, nas vacas que receberam 2kg ou 8kg de concentrado.

+ Médias dos tratamentos em um mesmo tempo diferem entre si ($P < 0,10$).

* Médias dos tratamentos em um mesmo tempo diferem entre si ($P < 0,05$).

** Médias dos tratamentos em um mesmo tempo diferem entre si ($P < 0,01$).

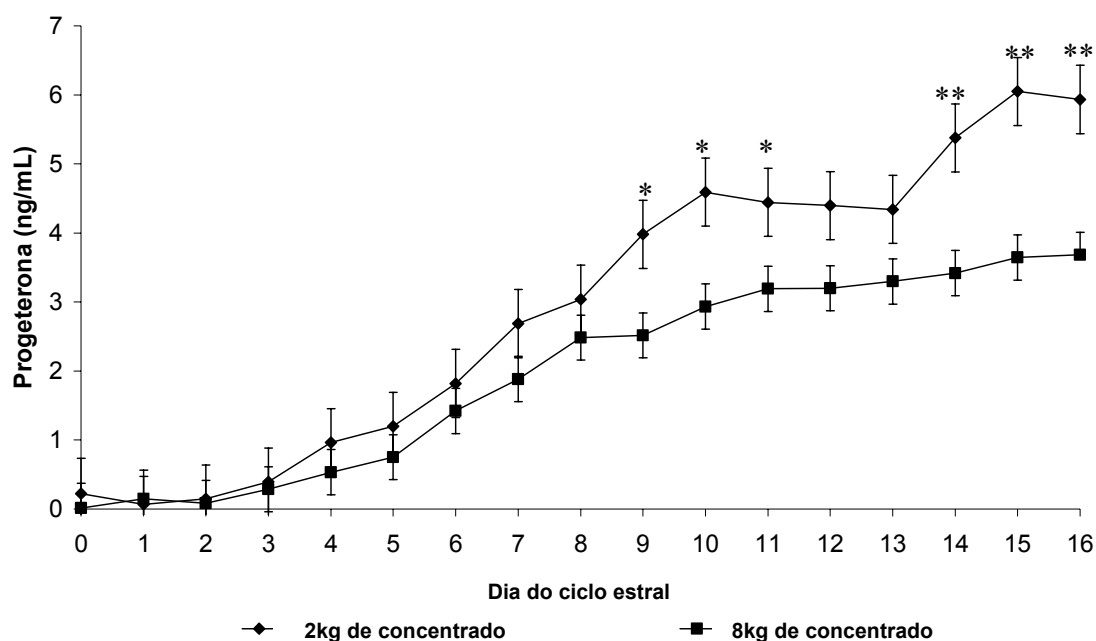


Figura 2. Concentração plasmática de progesterona (\pm EPM) durante os primeiros 16 dias do ciclo estral, quatro horas após a ingestão da metade do concentrado fornecido diariamente, nas vacas que receberam 2kg ou 8kg de concentrado.

* Médias dos tratamentos em um mesmo tempo diferem entre si ($P < 0,05$).

** Médias dos tratamentos em um mesmo tempo diferem entre si ($P < 0,01$).

O maior diâmetro do CL no grupo 8kg pode ser explicado pela redução na concentração plasmática de progesterona e conseqüente aumento da pulsatilidade do hormônio luteinizante (Rahe et al., 1980; Bergfeld et al., 1996), responsável pelo crescimento e função do CL no início do ciclo estral, entre os dias dois e 12 (Peters et al., 1994; Niswender et al., 2000). Esse efeito estimulatório do hormônio luteinizante no desenvolvimento inicial do CL, provavelmente foi o responsável pela não detecção da diferença na concentração plasmática de P4 entre os grupos 2kg e 8kg, nos primeiros oito dias do ciclo estral (Fig. 1 e 2). O aumento da metabolização da P4 nos animais que receberam 8kg de concentrado por dia foi, talvez, compensado pela maior produção de P4, atribuída ao aumento na pulsatilidade do hormônio luteinizante e conseqüente maior estimulação do CL na fase inicial de desenvolvimento (Peters et al., 1994; Niswender et al., 2000).

CONCLUSÃO

Os resultados confirmam os efeitos negativos da maior ingestão de concentrado na concentração plasmática de progesterona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGFELD, E.G.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S. et al. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17β -estradiol in bovine females. *Biol. Reprod.*, v.54, p.546-553, 1996.
- BUTLER, W.R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.81, p.2533-2539, 1998.
- DUNNE, L.D.; DISKIN, M.G.; BOLAND, M.P. et al. The effect of pre- and post-insemination

- plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Anim. Sci.*, v.69, p.411-417, 1999.
- FREETLY, H.C.; FERRELL, C.L. Net uptakes of oestradiol-17 β and progesterone across the portal-drained viscera and the liver of ewes. *J. Endocrinol.*, v.141, p.353-358, 1994.
- GREEN, M.P.; HUNTER, M.G.; MANN, G.E. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.88, p.179-189, 2005.
- HARRISON R.O.; FORD, S.P.; YOUNG, J.W. et al. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.73, p.2749-2758, 1990.
- LUCY, M. C. Reproductive loss in high producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.*, v.84, p.1277-1293, 2001.
- MILLER, H.M.; FOXCROFT, G.R.; SQUIRES, J. et al. The effects of feed intake and body fatness on progesterone metabolism in ovariectomized gilts. *J. Anim. Sci.*, v.77, p.3253-3261, 1999.
- NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J. et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.*, v.80, p.1-29, 2000.
- PARR, R.A.; DAVIS, I.F.; FAIRCLOUGH, R.J. et al. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *J. Reprod. Fertil.*, v.80, p.317-320, 1987.
- PARR, R.A.; DAVIS, I.F.; MILES, M.A. et al. Feed intake affects metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res. Vet. Sci.*, v.55, p.306-10, 1993a.
- PARR, R.A.; DAVIS, I.F.; MILES, M.A. et al. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res. Vet. Sci.*, v.55, p.311-316, 1993b.
- PETERS, K.E.; BERGFELD, E.G.; CUPP, A.S. et al. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea (CL) but is not required to maintain CL function in heifers. *Biol. Reprod.*, v.51, p.1248-1254, 1994.
- RAHE, C.H.; OWENS, R.E.; FLEEGER, J.L. et al. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, v.107, p.498-503, 1980.
- SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D.K.; SARTORI, R. et al. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.2831-2842, 2002.
- SYMONDS, H.W.; PRIME, G.R. The influence of volume of food intake by gilts on blood flow in the portal vein and clearance of progesterone from plasma. *Anim. Prod.*, v.48, p.620-621, 1989.
- USER'S guide: statistics. Version 6.02. Cary, NC: SAS Institute, 1988.
- VASCONCELOS, J.L.M.; SANGSRITAVONG, S.; TSAI, S.J. et al. Acute reduction in serum progesterone concentration after feed intake in dairy cows. *Theriogenology*, v.60, p.795-807, 2003.
- WASHBURN, S.P.; SILVIA, W.J.; BROWN, C.H. et al. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.244-251, 2002.