

Níveis de ingestão de matéria seca sobre metabólitos e hormônios circulantes e hormônios foliculares em novilhas de corte

Levels of dry matter intake on metabolites and hormones plasmatic and follicular hormones in beef heifers

RIGOLON, Luis Paulo ¹; PRADO, Ivanor Nunes do ¹; CAVALIERI, Fabio Luiz Bim ²; NEGRÃO, João Antônio ³; SILVA, Robério Rodrigues ^{*4}, MARQUES, Jair de Araújo ⁴

¹ Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Depto. de Zootecnia, Maringá, Paraná, Brasil

² Centro de Ensino Superior de Maringá, Faculdade de Medicina Veterinária, Maringá, Paraná, Brasil

³ Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, São Paulo, Brasil

⁴ Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Zootecnia, Itapetinga, Bahia, Brasil

*Endereço para correspondência: rrsilva@uesb.br

RESUMO

Objetivou-se verificar o efeito do nível da ingestão de matéria seca (IMS) em percentagem do peso vivo sobre as concentrações de glicose, insulina, uréia, estrógeno e progesterona no plasma sanguíneo da veia jugular, progesterona no plasma sanguíneo da veia cava caudal e IGF-1, estrógeno e progesterona no líquido folicular. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), de maio a junho de 2000. Foram utilizadas 27 novilhas cruzadas (½ Nelore vs. ½ Angus), distribuídas em três tratamentos e nove repetições: 1,2%; 1,6% e 2,6% de IMS/dia em relação ao peso vivo, respectivamente. As dietas continham 12,30% de PB e 1,11Mcal de ELg/kg de MS. Após 142 dias de experimento, os animais tiveram seus ciclos estrais sincronizados. Cinco novilhas de cada tratamento foram cateterizadas na veia cava caudal. O sangue foi coletado da veia jugular e cava caudal a cada dois dias até o 12º dia do ciclo estral e, a partir da oitava aplicação de FSH (D12), foram coletadas 11 amostras de sangue da veia jugular a cada 4 horas para se determinar as concentrações de glicose, insulina, uréia, estrógeno e progesterona no plasma sanguíneo. As outras quatro novilhas de cada tratamento foram ovariectomizadas na sétima aplicação de FSH (D12) para a dosagem dos níveis de IGF-I no líquido dos folículos médios (5-9mm) e grandes (>10mm). As concentrações de glicose (83,02mg/100mL) e estrógeno (1.796,93pg/mL) no plasma da veia jugular foram maiores ($p<0,05$) nos animais com 1,6% de IMS. Por outro lado, os níveis de insulina foram maiores ($p<0,05$) nos animais com 2,6% de IMS (13,96µU/L). Com o aumento dos níveis IMS, aumentaram, também, os níveis sanguíneos de uréia ($p<0,05$). Não

houve efeito ($p>0,05$) da IMS sobre os níveis de progesterona no plasma sanguíneo coletado da jugular. No entanto, no plasma sanguíneo coletado da veia cava caudal, os níveis de progesterona foram maiores ($p<0,05$) nos animais com 2,6% de IMS (11,77ng/ml). Da mesma forma, não houve efeito ($p>0,05$) da IMS sobre os níveis foliculares de IGF-I, estrógeno e progesterona. Pode-se concluir que nem sempre uma variação hormonal sistêmica é refletida em nível folicular.

Palavras-chave: estrógeno, glicose, insulina, progesterona e uréia

SUMMARY

This study was carried out to evaluate the effect of dry matter intake (DMI) on metabolites and plasmatic and follicular hormones. Twenty seven crossbreed ½ Nelore x ½ Angus heifers were allocated in the 3 groups, with 9 replications each: 1.2%, 1.6% and 2.6% of DMI/day on the relation of body weight. One hundred forty two days after the beginning of experiment the oestrous cycle was synchronized. Five heifers from each group were catheterized in the caudal vena cava. Blood was collected via jugular vein and caudal vena cava every two days up to 12th day of the oestrous cycle from 8th FSH application, 11 blood samples were collected from jugular vein every 4 hours to determine glucose, insulin, urea, estradiol-17β and progesterone in plasma. Four heifers from each group were ovariectomized in the 7th FSH doses and IGF-I, estradiol-17β and progesterone levels were determined in fluid of the mean and large follicle. Glucose levels (83.02 mg/100 mL) and estradiol-17β (1796.93 pg/mL) were superior

($P < 0.05$) in the jugular vein from heifers with 1.6% of DMI. However, levels of insulin (13.96 $\mu\text{U/L}$) were higher ($P < 0.05$) for heifers receiving 2.6% of DMI. Levels of urea were higher ($P < 0.05$) as DMI increased. Levels of progesterone, in plasma of jugular vein, were not affected by DMI. However, levels of progesterone were higher ($P < 0.05$) for

heifers receiving 2.6% of DM (11.77 ng/ml) than for heifers receiving 1.2% of DM (6.39% ng/ml). It can be concluded that not always the plasmatic hormonal variation is reflected in to follicular level.

Keywords: estrogen, glucose, insulin, progesterone and urea

INTRODUÇÃO

O índice reprodutivo é um dos principais fatores que determinam a rentabilidade de uma propriedade de bovinos de corte. Nos últimos anos, a implementação da seleção animal, associada a um melhor manejo, tem possibilitado um aumento significativo na produtividade dos rebanhos nacionais. Entretanto, o mesmo não tem sido observado com as variáveis reprodutivas. As mesmas estagnaram ou decresceram nos últimos anos, apresentando-se de forma inversa à produção animal (BUTLER, 2000).

O *status* nutricional de um animal é um dos principais fatores responsáveis pela fertilidade dos bovinos (ROBINSON et al., 1999). Dentre os fatores nutricionais responsáveis pelas variáveis reprodutivas, podem ser destacados o efeito da proteína bruta (GARCIA-BAJALIL et al., 1994), nível de vitamina A (SHAW et al., 1995), concentração de gordura (THOMAS et al., 1996), condição corporal e densidade energética da dieta (NOLAN et al., 1998; O'CALLAGHAN & BOLAND, 1999; YAAKUB et al., 1999). Todavia, alguns dos mecanismos envolvidos na interface nutrição e reprodução animal ainda não estão completamente elucidados (ARMSTRONG et al., 2000).

A densidade energética da dieta parece ser um dos principais fatores envolvidos no crescimento folicular, ovulação e desenvolvimento embrionário. Trabalhos com ovelhas têm mostrado que um aumento no nível de energia da dieta em curto prazo aumenta o número de folículos e, por sua vez, a taxa de

ovulação (HARESIGN, 1981; TELONI et al., 1989; LEURY et al., 1990; MOLLE et al., 1995). Embora os bovinos sejam espécies monovulatórias, parece haver efeito semelhante do aumento do nível de energia da dieta sobre o crescimento folicular (MAURASSE et al., 1985; GUTIERREZ et al., 1997).

Por outro lado, o número de folículos responsivos às gonadotrofinas, no início dos tratamentos hormonais, parece ser um dos fatores que alteram a resposta superovulatória na produção e transferência de embriões (GONG et al., 1997). Na realidade, a produção *in vitro* e a transferência de embriões têm sido consideradas umas das principais biotécnicas da reprodução animal ao lado da inseminação artificial, pois valoriza também o potencial reprodutivo das fêmeas.

Vários dos mecanismos, pelos quais o aumento do nível de energia na dieta eleva o número de folículos, parecem ser mediados por alterações, nas concentrações sanguíneas, de glicose (TELENI et al., 1989; DOWNING et al., 1995^a; O'CALLAGHAN & BOLAND, 1999), insulina (HARRISON & RANDEL, 1986; GUTIÉRREZ et al., 1997; SIMPSON et al., 1994; LANDAU et al., 2000), IGF-I de suas proteínas ligantes (RHIND et al., 1991; WEBB, 1998; HOUSEKNECHT et al., 1988; ARMSTRONG et al., 2000) e de progesterona (NOLAN et al., 1998; DUNNE et al., 1998; O'CALLAGHAN et al., 2000).

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho verificar a influência do nível de ingestão de matéria seca, em percentagem do peso vivo, sobre as concentrações sanguíneas de progesterona, estrógeno, glicose, insulina, uréia e IGF-I no fluido folicular, durante tratamento superovulatório em novilhas de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Corte da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) localizada em Iguatemi, no período de março a junho de 2000.

Foram utilizadas 27 novilhas cruzadas (½ Nelore vs. ½ Angus) com idade média de 16 meses e 290kg. Na chegada, as novilhas foram pesadas, identificadas com brincos plásticos na orelha esquerda, vacinadas contra febre aftosa (Afto 6, Pfizer®) e vermifugadas com Ivermectina a 1% (Ivomec, Merial®). Em seguida, foram alojadas em baias individuais de 10m², piso de concreto, cercadas com barra de ferro, com área coberta com

telhas de zinco e solário. A alimentação foi fornecida em comedouros de alvenarias com 2m lineares por animal. A água foi disponibilizada *ad libitum*, em bebedouros localizados na área descoberta das instalações.

As 27 novilhas, após avaliação positiva de funcionalidade ovariana, por palpação retal, foram distribuídas em três tratamentos (ingestão de matéria seca – IMS em % do peso vivo), com nove repetições, como segue: tratamento 1 = 1,2% de IMS; tratamento 2 = 1,6% de IMS; tratamento 3 = 2,6% de IMS.

As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (1996) (Tabela 1), objetivando-se atender as exigências de novilhas de corte com peso médio de 290kg e ganho médio diário proposto para cada tratamento.

Tabela 1. Ingestão de matéria seca kg/dia em função do peso vivo

Rações	1,2%	1,6%	2,6%
Silagem de Milho	1,80	2,50	3,25
Milho Grão	1,43	1,98	2,58
Farelo de Soja	0,33	0,46	0,60
Sal Mineral	0,04	0,06	0,07
Total	3,60	5,00	6,50
Consumo de MS/PV (%)	1,20	1,60	2,60

O fornecimento de ração foi dividido em duas vezes ao dia, ou seja, às 8:00 e 16:00 horas. Diariamente, no período da manhã, antes da distribuição da ração, foi realizada a limpeza dos comedouros. O controle quantitativo das sobras foi efetuado três vezes por semana durante todo o experimento, estimando-se, assim, a ingestão de matéria seca, sobretudo dos animais do tratamento três. Da mesma forma, as dietas foram ajustadas mensalmente de acordo com o peso médio de cada animal e suas respectivas necessidades.

Após 142 dias de experimento (período de adaptação), os animais tiveram seus ciclos estrais sincronizados (D0 = estro) com a aplicação de PGF2a (Preloban®, Hoechst Vet S.A.) e, nove dias depois (D9), os mesmos foram superovulados com 250UI de FSH (Pluset - Calier®), em duas doses diárias decrescentes, durante quatro dias, utilizando-se na sexta aplicação de FSH (D11), também foi o PGF2a (Preloban®, Hoechst Vet S.A.).

Cinco animais de cada tratamento foram cateterizados na veia cava caudal, de

acordo com a técnica descrita por Benot et al. (1991) e modificada por Rhodes et al. (1995). Os animais foram tranquilizados com xilazina e, logo após, anestesiados localmente (acima da junta tarsal, na pata posterior direita) com uma solução de lidocaína a 5%. Nesse local foi feita uma anti-sepsia com álcool-iodado e introduzida uma agulha de 10cm e calibre 12 na veia safena lateral, seguida por uma incisão na pele. Um catéter de 200cm de comprimento foi introduzido através da agulha, até a marca de 100cm. A localização da ponta do cateter na veia cava caudal, na altura do sangue drenado do útero e ovário, foi confirmada por meio da palpação transretal e de um aparelho de ultra-som Scanner 480 (Pie Medical®, com sonda de 5,0 e 7,5Mhz).

Amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular e do catéter inserido

na veia cava caudal a cada dois dias, do momento do estro (D0) até o último dia do tratamento superovulatório (D12), objetivando-se analisar as concentrações de progesterona (Fluorimetria – Rhesus®). A partir da oitava aplicação de FSH (D12), foram coletadas 11 amostras de sangue da veia jugular, a cada 4 horas, para determinação das concentrações de uréia, glicose, estrógeno (Fluorimetria) e insulina (Figura 1). As amostras de sangue foram coletadas em tubos heparinizados e, então, submetidas à centrifugação a 3200rpm, por 20 minutos. O plasma foi separado, acondicionado em microtubos de 1,5ml (Eppendorf®) e armazenado a -20°C para as posteriores dosagens dos parâmetros avaliados.

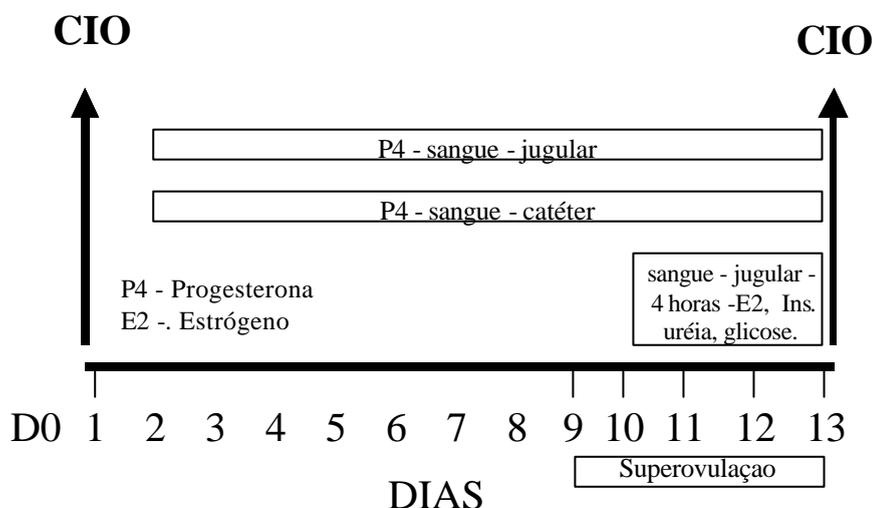


Figura 1. Esquema experimental de coleta de sangue

Em quatro animais de cada tratamento, na sétima aplicação de FSH (D12), foi realizada uma incisão no flanco para a localização dos ovários e posterior ovariectomia. Os ovários foram mantidos a 37°C e conduzidos ao laboratório de reprodução animal da Fazenda Experimental de Iguatemi, onde o líquido dos folículos, médios (5-9mm) e grandes

(>10mm), foi aspirado e armazenado em microtubos de 1,5ml (eppendorf®) a -20°C, para as dosagens de IGF-I (método segundo SPICER et al., 1992)

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e cinco repetições para as dosagens dos parâmetros sanguíneos avaliados e quatro repetições para as análises hormonais no fluido folicular, de

acordo com o modelo estatístico apresentado abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + C_j + TC_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ij} = Observação referente ao animal j , submetido ao tratamento i ($i = 1, \dots, 3$);

μ = Constante geral associado a cada observação;

T_i = Efeito do tratamento i ($i = 1, \dots, 3$);

C_j = Efeito da coleta j ($j = 1, \dots, 11$);

e_{ijk} = Erro aleatório associado a cada observação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais com 1,6% de ingestão de matéria seca mostraram aumento ($p < 0,05$) nas concentrações sanguíneas de glicose (Figura 1), quando comparados aos animais com 1,2 e 2,6% de IMS. Esses resultados estão de acordo com as observações de Cavalieri et al. (1998), que observaram um aumento na concentração sanguínea de glicose para níveis intermediários de energia na dieta. A glicose é considerada um importante metabólito envolvido na regulação do crescimento folicular (TELENI et al., 1989; DOWNING et al., 1991; DOWNING et al., 1995a; DOWNING et al., 1995b; MOLLE et al., 1995). Short & Adams (1989) afirmaram que a glicose é a principal fonte de energia utilizada pelo sistema nervoso, sendo o mediador específico dos efeitos da nutrição na reprodução animal.

O fornecimento de dietas ricas em grãos aos ruminantes altera a população de microrganismos do rúmen, bem como a produção e a proporção de ácidos graxos voláteis produzidos (TELENI et al., 1989). Na realidade, o uso de cereais proporciona maior produção de ácido propiônico (SILVA & LEÃO, 1979). Após sua absorção pela parede ruminal, o ácido propiônico é carregado até o fígado onde é metabolizado até se tornar glicose por meio da gluconeogênese

(O'CALLAGHAN & BOLAND, 1999). Durante esse processo, ocorre um aumento dos níveis de glicose circulante na corrente sanguínea (LEURY et al., 1990). Matsunaga et al. (1999) infundiram uma mistura de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato e n-butirato, na proporção molar de 73:19:8, respectivamente) a uma taxa de 107 $\mu\text{mol/kg/min.}$, durante 4 horas, e verificaram um aumento nos níveis circulantes da glicose sanguínea. Da mesma forma, Dicostanzo et al. (1999) observaram um aumento na concentração sanguínea de glicose ao infundir ácido propiônico no rúmen. No entanto, vale observar que, neste experimento, os animais do tratamento com maior nível de ingestão (2,6% de IMS) apresentaram menores concentrações de glicose do que aqueles alimentados com 1,6% e 1,2% de IMS, respectivamente. Esses resultados poderiam ser explicados, em parte, pela maior concentração de insulina circulante observada nos animais alimentados com 2,6% de IMS.

Os animais do tratamento com 2,6% de IMS apresentaram maior concentração sanguínea de insulina ($p < 0,001$), em comparação aos animais do tratamento 1,2 e 1,6% de IMS. A insulina está intimamente relacionada ao nível de glicose circulante (DOWNING et al., 1995b) e apresenta várias funções relacionadas principalmente com a dinâmica folicular, tais como: proliferação e diferenciação das células da granulosa (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995), esteróidogênese e número de folículos pequenos, médios e grandes (HARRISON & RANDEL, 1986; SIMPSON et al., 1994; DOWNING et al., 1995b). Gutiérrez et al. (1997) concluíram que os efeitos do aumento de energia na dieta no crescimento foliculares ocorreram em função do aumento da concentração de insulina circulante. Cox et al. (1987) administraram insulina em leitoas alimentadas com alta ou moderada energia e verificaram um aumento na taxa de ovulação. Da mesma forma, Matamoros et al. (1990) verificaram uma diminuição na atresia folicular ao injetar em insulina em leitoas alimentadas com dietas restritas em energia.

Por outro lado, parece não ser somente o aumento do nível de energia na dieta, ou seja, aumento da produção de ácidos graxos voláteis, que estimula o aumento nos níveis de glicose sanguínea e, conseqüentemente, do nível de insulina circulante. Dessa forma, Downing et al. (1995c) verificaram que a infusão de ácidos graxos de cadeia ramificada ou a inclusão de alimentos na dieta ricos em leucina também aumentam a concentração de insulina plasmática (LANDAU et al., 1996). Sendo assim, o aumento na quantidade de alimentos consumidos pelos animais com a dieta *ad libitum* (2,6% de IMS) pode ter aumentado a quantidade de carboidratos utilizados (ácido propiônico no rúmen ou glicose no intestino) e de aminoácidos disponíveis para a absorção intestinal, tendo, com isso, contribuído para o aumento nas concentrações sanguíneas de insulina circulante. Bassett et al. (1971) também demonstraram que a concentração de insulina plasmática estava positivamente correlacionada com a quantidade de matéria orgânica ou proteína digestível ingerida pelo animal.

No entanto, McCann & Hansel (1986) observaram que, ao injetarem uma quantidade constante de glicose em novilhas obesas ou magras, os animais do primeiro grupo apresentaram uma maior concentração sanguínea de insulina e mesma taxa de remoção fracional da glicose, demonstrando uma menor sensibilidade celular à atuação da insulina em animais obesos. Os animais do tratamento *ad libitum*, nesse experimento, estavam mais obesos quando comparados aos animais alimentados com 1,6 e 1,2% de IMS. Contudo, nem sempre uma maior concentração de insulina sanguínea significa maior produção pancreática da mesma (HARMON, 1992). Os hormônios pancreáticos são primeiramente liberados na circulação-porta e a concentração sanguínea desses hormônios representa a diferença líquida entre a taxa de secreção e o *clearance* hepático.

Por outro lado, como mostrado na Figura 4, os níveis sanguíneos de uréia aumentaram

($p < 0,0001$) em função do aumento da IMS. Vários trabalhos de pesquisas têm mostrado que o aumento de uréia na circulação sanguínea altera negativamente a reprodução animal (HOWARD et al., 1987; CARROL et al., 1988; BRUCKENTAL et al., 1989; SANTOS & AMSTALDEN, 1998; GARCIA-BAJALIL et al., 1998). O efeito negativo da uréia pode estar relacionado, principalmente, a uma diminuição do pH uterino (ELROD & BUTLER, 1993a, 1993b). Essa redução poderia prejudicar a resposta dos espermatozoides e óvulos (SINCLAIR et al., 2000), o desenvolvimento inicial do embrião e/ou alteração na concentração sanguínea de progesterona e insulina (SANTOS & AMSTALDEN, 1998). Da mesma forma, Ferguson et al. (1993) reportaram que a taxa de concepção no rebanho diminuiu quando os níveis circulantes de uréia no sangue estão acima de 20mg/dl. Todavia, nesse experimento, o tratamento com 2,6% de IMS apresentou uma média de 19,9mg/100mL, nível inferior àqueles destacados pelos autores como sendo responsáveis pelos efeitos negativos na reprodução. Dessa maneira, os níveis circulantes de uréia não poderiam ser os responsáveis pelos efeitos negativos no ambiente uterino e, conseqüentemente, sobre mortes embrionárias.

Na realidade, com o aumento da IMS, em função do tratamento, ocorreu também um aumento na ingestão de proteína bruta, uma vez que as rações eram iso-proteicas. Assim sendo, o aumento na ingestão de proteína bruta intensificaria sua degradação no rúmen e, por conseqüência, maior quantidade de amônia seria produzida. Essa maior produção de amônia poderia ser absorvida pela parede ruminal ou poderia aumentar a produção e o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado. Dessa forma, tanto a absorção de amônia pela parede ruminal quanto a absorção de aminoácidos pelo intestino delgado poderiam elevar os níveis circulantes de uréia na corrente sanguínea (Figura 4).

O tratamento com 1,6% de IMS apresentou maior ($p < 0,005$) concentração sanguínea de

estradiol (Figura 5), quando comparado ao tratamento com 1,2 e 2,6% de IMS. O estradiol é produzido nas células da granulosa pelo folículo em desenvolvimento a partir de andrógenos sintetizados nas células da teca. Esse hormônio está diretamente relacionado às características do estro, bem como à liberação de LH pela hipófise anterior (FORTUNE et al., 1993; GINTHER et al., 1996). A explicação para os resultados encontrados neste experimento ainda permanece desconhecida, mas o número de folículos em crescimento, que não foi medido na presente pesquisa, poderia estar influenciando a concentração de estrógeno na circulação.

Não houve efeito ($p > 0,10$) do nível de IMS sobre a concentração de progesterona no plasma sanguíneo, coletado na jugular externa (Figura 6). No entanto, houve efeito positivo ($p < 0,03$) do nível de IMS sobre a concentração de progesterona do sangue coletado na veia cava caudal (Figura 7). Essas concentrações de progesterona, diferentes no sangue periférico e interno, possivelmente, ocorreram em função dos horários de coleta ou da meia vida do hormônio. A progesterona é o hormônio essencial para a manutenção da gestação nos animais domésticos. Ashworth (1995) afirmou que a concentração circulante de progesterona modifica a quantidade e a composição dos polipeptídicos secretados pelo endométrio, muitos dos quais responsáveis pelo desenvolvimento do embrião e também diretamente relacionado à qualidade do ovócito (MCEVOY et al., 1995). Ainda, O'Callaghan et al. (2000) afirmaram que pequenas mudanças na concentração de progesterona no período inicial do desenvolvimento embrionário podem ser um fator crítico para a sobrevivência do embrião.

Vários experimentos com ovelhas têm mostrado que o aumento no nível de energia da dieta diminui a concentração de progesterona circulante (CUMMING et al.,

1971; WILLIAMS & CUMMING, 1982; PARR et al., 1987; MCEVOY et al., 1995; O'CALLAGHAN et al., 2000). O fígado é o local principal de metabolismo dos hormônios esteróides. Segundo Ashworth (1995), alterações na ingestão de nutrientes podem alterar o metabolismo de progesterona de três diferentes maneiras: mudança na massa hepática, mudança na taxa de fluxo sanguíneo hepático e mudança na atividade de enzimas oxidativas ou P-450 que atuam no metabolismo de catálise dos hormônios esteróides.

Parr (1992) propôs que o aumento na ingestão de alimentos no início da gestação em ovelhas causaria uma elevação no fluxo sanguíneo no trato gastrointestinal e no fígado. Ainda, segundo Ashworth (1995), 95% da progesterona circulante é metabolizada durante uma única passagem através do intestino e fígado. Dessa forma, existiria uma redução na concentração periférica de progesterona. No entanto, em relação aos bovinos, os resultados são contraditórios. Murphy et al. (1991) trabalharam com 19 novilhas Hereford x Frisien e alimentaram os animais com uma dieta representando 0,7; 1,1 e 1,8% do peso vivo em relação à IMS/dia, durante 5 semanas de tratamento. Os autores também não observaram variações nas concentrações sanguíneas de progesterona, o que estaria de acordo com os resultados desse experimento, onde os níveis de IMS não alteraram as concentrações sanguíneas de progesterona. Resultados semelhantes foram encontrados por Beal et al. (1978), Spitzer et al. (1978) e Dunne et al. (1999).

McAnn & Hansel (1986) e Nolan et al. (1998) verificaram um aumento na concentração de progesterona ao diminuir o nível de energia da dieta, o que também poderia estar relacionado à mobilização de gordura nos animais subalimentados e, dessa forma, aumentar as concentrações de progesterona sanguínea.

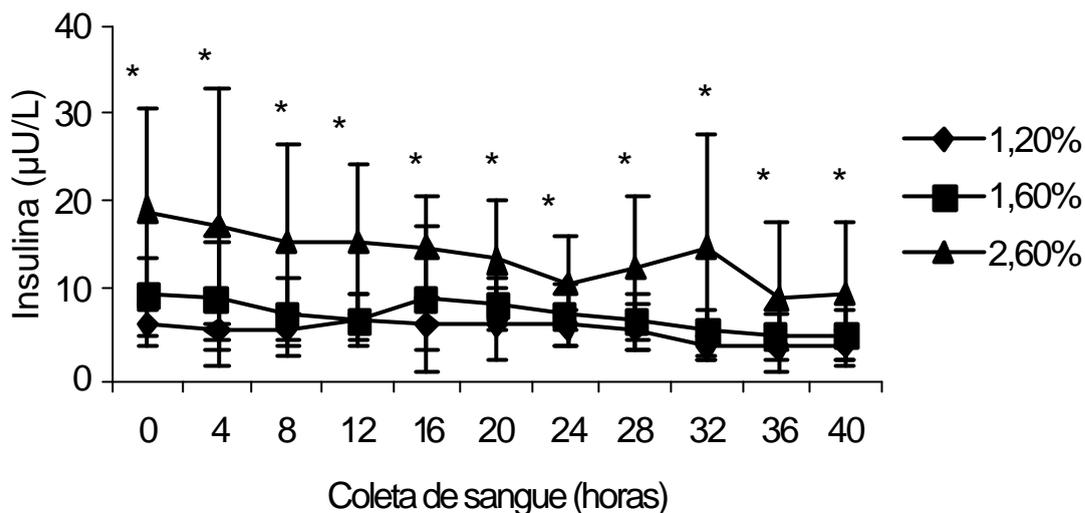


Figura 2. Efeito dos níveis de IMS (kg/100kg de PV) sobre a concentração sanguínea de glicose (mg/100mL), em função do tempo

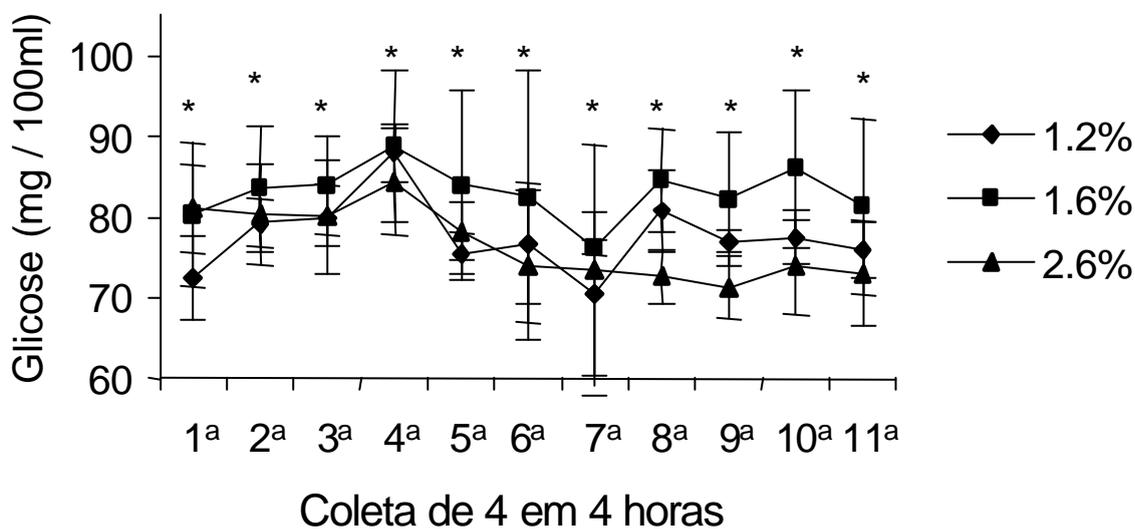


Figura 3. Efeito do nível de ingestão de matéria seca (kg/100kg de PV) sobre a concentração sanguínea de insulina (µU/L), em função do tempo

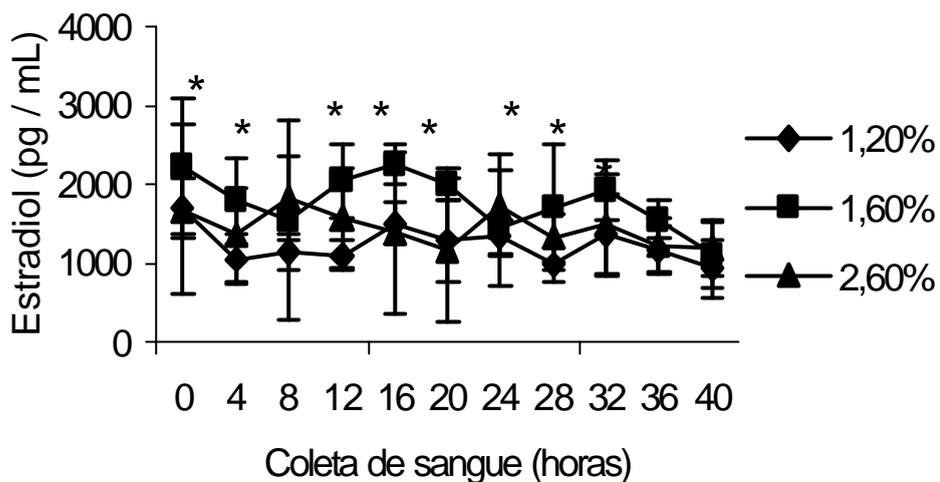


Figura 4. Efeito do nível de ingestão de matéria seca (kg/100kg de PV) sobre a concentração sanguínea de uréia (mg/100mL), em função do tempo

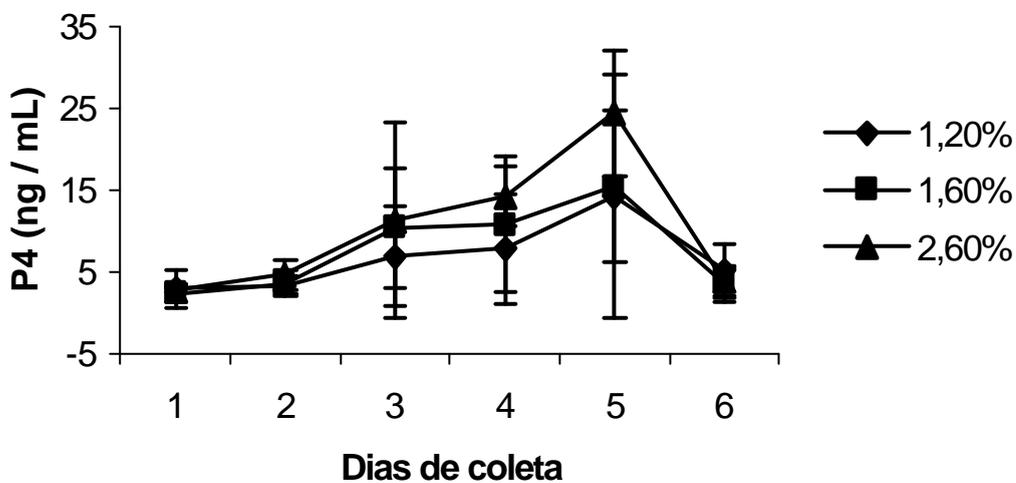


Figura 5. Efeito do nível de ingestão de matéria seca (kg/100kg de PV) sobre a concentração sanguínea de Estradiol (pg/mL), em função do tempo

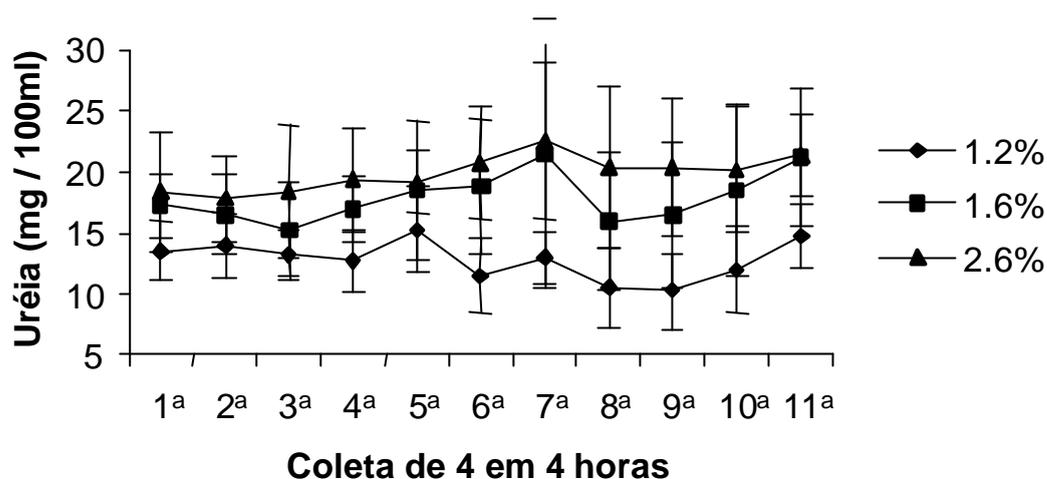


Figura 6. Efeito do nível de ingestão de matéria seca (kg/100kg de PV) sobre a concentração sanguínea de progesterona (ng/mL), coletada da veia jugular, em função do dia de coleta

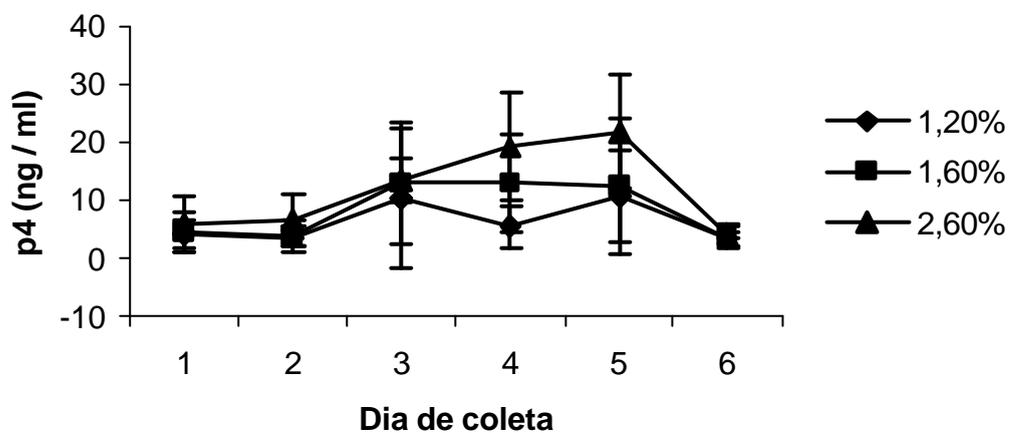


Figura 7. Efeito do nível de ingestão de matéria seca (kg/100kg de PV) sobre a concentração sanguínea de progesterona (ng/mL), coletada do catéter inserido na veia cava

A Figura 7 mostra que o nível de 2,6% de IMS elevou a concentração de progesterona na veia cava caudal ($p < 0,05$) quando comparado com nível de 1,2%, não diferindo do nível de 1,6% de IMS. Vários métodos têm sido descritos na literatura com o objetivo de mensurar mais adequadamente a produção hormonal ovariana, entre eles: a cateterização cirúrgica da veia útero-ovárica (IRELAND et al, 1984), da veia coccígea média (WALTERS et al, 1984) e, mais recentemente, da veia cava caudal, via veia safena lateral (BENOIT & DAILEY, 1991; RHODES et al, 1995).

Com base nos resultados deste experimento, podemos verificar que a síntese de um determinado hormônio nem sempre é o reflexo do seu nível circulante após a metabolização, o que também está de acordo com as considerações de Harmon et al (1992). Por exemplo, a progesterona é produzida pelas células da granulosa e células da teca (células maiores e menores, respectivamente) (MURPHY, 2000) a partir do colesterol (LEHNINGER, 1995; SANTOS & AMSTALDEN, 1998; MURPHY, 2000), que pode ser derivado de duas fontes principais – nova síntese a partir do acetato ou de lipoproteínas do colesterol no plasma (GRUMER & CARROL, 1988).

Schick et al. (1992) verificaram que o anestro nutricional pode ser precedido pela formação de um corpo lúteo subfuncional e ou com baixa capacidade esteroidogênica. No entanto, quando o tecido luteal, coletado dessas vacas, foi incubado *in vitro* com disponibilidade de nutrientes, o mesmo não se apresentou subfuncional. Os autores afirmaram que a disponibilidade de metabólitos é um dos principais fatores que determina a síntese de progesterona em vacas, estando associada ao nível circulante de insulina. Dessa forma, o aumento no nível de IMS poderia ter elevado a produção de ácidos graxos ruminais, aumentando, conseqüentemente, o nível de acetato disponível para a síntese

de colesterol e, posteriormente, de progesterona. Todavia, os animais alimentados com 2,6% de MS apresentavam também uma maior concentração de insulina na circulação (Figura 3), a qual é considerada um dos principais hormônios reguladores da esteroidogênese ovariana (SIMPSON et al, 1994; SPICER & ECHTERNKAMP, 1995), que poderia ter facilitado uma maior disponibilidade de nutrientes para o tecido luteal desses animais.

No entanto, não podemos descartar a hipótese observada em ovinos de que os animais alimentados com alta energia na dieta apresentaram um maior catabolismo de progesterona, pois, apesar de um aumento na produção de progesterona pelo corpo lúteo dos animais que consumiam maior quantidade de alimento, os níveis de progesterona coletados da veia jugular foram semelhantes (Figura 6).

Mesmo existindo efeito de tratamento nas concentrações sanguíneas de vários hormônios, não houve efeito do nível de IMS ($p > 0,05$) sobre a concentração de IGF-I (Tabela 3). Spicer et al. (1992) não encontraram diferença na concentração de IGF-I no fluido folicular de novilhas após 24 a 48 horas de jejum, apesar de terem encontrado diferença nas concentrações sanguíneas desse hormônio. Assim, parece que as concentrações de IGF-I intrafolicular são mais resistentes a manipulações dietéticas do que as concentrações sistêmicas (O'CALLAGHAN et al., 2000).

É possível afirmar que, os resultados deste experimento estão de acordo com aqueles encontrados por Spicer et al (1991), que realizaram um trabalho com objetivo de estudar o efeito da ingestão de energia na dieta e as concentrações sanguíneas e foliculares de IGF-I. Para tanto, realizaram um experimento com 23 novilhas divididas em três tratamentos: T1 = 1,8% PV de IMS/dia (ganho de peso); T2 = 1,1% do PV (manutenção) e T3 = 0,7% do PV (perda de peso). Após 10 semanas de tratamento, os animais foram ovariectomizados, e os

autores verificaram que não houve diferença nas concentrações sanguíneas e foliculares de IGF-I. Entretanto, esses resultados diferem daqueles encontrados por O'Callaghan et al. (1998, 2000) com ovelhas. Esses autores observaram que os

animais alimentados com 0,5 ou 2,0 vezes as exigências de manutenção apresentaram menores concentrações de IGF-I no fluido folicular quando comparados aos animais alimentados com 1,0 vez as exigências de manutenção.

Tabela 3. Efeito do nível de ingestão de matéria seca (kg/100kg de PV) sobre as concentrações de IGF-I (ng/mL), no líquido folicular em novilhas de corte

Variáveis	Tratamentos – IMS (% PV)			
	1,2 %	1,6 %	2,6 %	CV* (%)
IGF-1 (ng/mL)	327,76 ^a	282,82 ^a	258,32 ^a	29,01

^aMédias com letras diferentes na mesma linha, diferem ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

*Coeficiente de Variação

O IGF-I é um potente regulador da folículo-gênese em bovinos (ADASHI, 1992; WEBB, 1998; ARMSTRONG et al., 2000; O'CALLAGHAN et al., 2000). No entanto, o sistema IGF-I é regulado por meio de sua associação com uma família de seis proteínas ligantes específicas (IGFBP 1 - 6) (WEBB & ARMSTRONG, 1998), a qual determina a biodisponibilidade do IGF-I e seus efeitos no crescimento folicular (DE LA SOTA et al., 1996). Dessa forma, a diminuição folicular de IGFBP resultaria em um aumento na atividade biológica do IGF-I produzido localmente e, assim, aumentaria a resposta dos folículos às gonadotrofinas (WEBB, 1999). Todavia, neste experimento não foi possível mensurar as concentrações de IGFBP no líquido folicular.

O aumento do nível de ingestão de matéria seca altera as concentrações sanguíneas de estrógeno, insulina, uréia, glicose e progesterona, sem influenciar as concentrações foliculares de IGF-I em novilhas cruzadas (½ Nelore vs ½ Simental) superovuladas. Assim, nem sempre uma variação hormonal sistêmica é refletida em nível folicular.

REFERÊNCIAS

ADASHI, E.Y. Intraovarian regulation: the IGF-I example. **Reproduction, fertility and development**, v.4, p.497-504, 1992.

ARMSTRONG, D.C.; MCEVOY, T.G.; BAXTER, G. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: association with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology of Reproduction**, p. 624-1632, 2000.

ASHWORTH, C.J. Maternal and conceptus factors affecting historical nutrition and survival of embryos. **Livestock Production Science**, v. 44, p.99-105, 1995.

BASSET, J.M.; WESTON, R.H.; HOGAN, J.P. Dietary regulation of plasma insulin and growth hormone concentration in sheep. **Australian Journal of Biology Science**, v. 24, p.321-324, 1971.

BEAL, W.E.; SHORT, R.E.; STAIGMILLER, R.B; BELLOWS, R.A.; KALTENBACH, C.C.; T.G. , T.G. Influence of dietary energy intake on bovine pituitary

and luteal function. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 181-188, 1978.

BENOT, A.M.; DAILEY, R.A.
Catheterization of the caudal vena cava via the lateral saphenus vein in the ewe, cow, and gilt: an alternative to utero-ovaria and medial coccygeal vein catheter. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2971-2979, 1991.

BRUCKENTAL, I.; DRORI, D.; KAIM, M.
Effects of source and level of protein on milk yield and reproductive performance of high-producing primiparus and multiparus dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 48, p. 319-329, 1989.

BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60, p. 449-457, 2000.

CARROL, D.J.; BARTON, B.A.;
ANDERSON, G.W.; SMITH, R.D.
Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.71, p. 3470-3481, 1988.

CAVALIERI, F.L.B.; RIGOLON, L.P.;
SANTOS, G.T. Efeito do nível de suplementação energética e protéica na resposta superovulatória em ovelhas da raça Corriedale. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 1998. p.202-204.

COX, N.M.; STUART, M.J.; ALTHEN, T.G.; BENNETT, W.A.; MILLER, H.W.
Enhancement of ovulation rate in gilts by increasing dietary energy and administering insulin during follicular growth. **Journal of Animal Science**, v.64, p.507-516, 1987.

CUMMING, I.A.; MOLE, J.;
BLOCKEY, M.A.B.; BLOCKEY, M.A.;
WINFIELD, G.G.; GODING, J.R.
Increase in plasma progesterone caused

by under nutrition during early pregnancy in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.24, p.146-147, 1971.

DE LA SOTA, R.L.; SIMMEN, F.A.;
DIAZ, T.; THATCHER, W.W. Insulin-like growth factor system in bovine first-wave dominant and subordinate follicles. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 803-812, 1996.

DICOSTANZO, A.; WILLIAMS, J.E.;
KEISLER, D.H. Effects of short- or long term infusions of acetate or propionate on luteinizing hormone, insulin, and metabolic concentrations in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, p.3050-3056, 1999.

DOWNING, J.A.; JOSS, J.; CONNELL, P.; SCARAMUZZI, R.J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.103, p.37-145, 1995a.

DOWNING, J.A.; JOSS, J.;
SACARAMUZZI, R.J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrus cycle. **Journal of Endocrinology**, v.146, p.403-410, 1995b.

DOWNING, J.A.; JOSS, J.; CONNELL, P.
A mixture of the branched chain amino acids leucine, isoleucine and valine increased ovulation rate in ewes when infused during the late luteal phase of the oestrous cycle: an effect that may be mediated by insulin. **Journal of Endocrinology**, v. 145, p. 315-323, 1995c.

DOWNING, J.A.; SCARAMUZZI, R.J.
Nutrients effect on ovulation rate, ovarian function and secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 43, p.209-227, 1991.

DUNNE, L.D.; DISKIN, M.G.; BOLAND, K.J.; O'FARRELL, K.J.; SREENAN, J.M. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on early embryo survival in cattle. **Proceedure Brithisty Society Animal Science**, v.36, p.35, 1998.

DUNNE, L.D.; DISKIN, M.G.; BOLAND, K.J.; O'FARRELL, K.J.; SREENAN, J.M. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 411-417, 1999.

ELROD, C.C.; BUTLER, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **Journal of Animal Science**, v. 71, p.694-701, 1993a.

ELROD, C.C.; BUTLER, W.R. Alteration of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 702-706, 1993b.

FORTUNE, J.E. Follicular dynamics during the bovine oestrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility? **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 111-125, 1993.

GARCIA-BOJALIL, C.M.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W.; DROST, M. Protein Intake and Development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2537-2548, 1984.

GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 87, p.1187-1194, 1989.

GONG, J.G.; BAXTER, G.; BRAMLEY, T.A.; WEBB, R. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study.

Journal of Reproduction and Fertility, v.110, p. 91-97, 1997.

GUTIÉRREZ, C.G.; OLDHAM, J.; BRAMLEY, T.A.; GONG, J.G.; CAMPBELL, B.K.; WEBB, R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, p.1876-1884, 1997.

HARESIGN, W. The influence of nutrition on reproduction in the ewe. **Animal Reproduction Science**, v.32, p.197-202, 1981.

HARMON, D.L. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants: a review. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1290-1301, 1992.

HARRISON, L.M.; RANDEL, R.D. Influence of insulin and energy intake on ovulation rate, luteinizing hormone and progesterone in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 63, p.1228-1235, 1986.

HOUSEKNECHT, K.L.; BOGGS, D.L.; CAMPION, D.R. Effect of dietary energy source and level on serum growth hormone, insuline-like growth factor 1, growth and body composition in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 2916-2923, 1988.

HOWARD, H.P.; AALSETH, E.P.; TAMINGA, S. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 759, 1987.

IRELAND, J.J.; FOGWELL, R.L.; OXENDER, D. roduction of estradiol by each ovary during the oestrus cycle of cows. **Journal of Animal Science**, p. 4-771, 1984.

LANDAU, S.; BRAW-TAL, R.; KAIM, M.; BOR, A.; BRUCKENTAL, I.

Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose content of follicles in high-yielding dairy cows.

Animal Reproduction Science, v. 62, p.181-187, 2000.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. p.839.

LEURY, B.J.; MURRAY, P.J.; ROWE, J.B. Effect of nutrition on the response in ovulation rate in merino ewes following short-term supplementation and insulin administration. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 41, p. 751-759, 1990.

MATAMOROS, I.A.; COX, N.M.; MOORE, A.B. Exogenous insulin and additional energy affect follicular distribution, follicular steroid concentrations, and granulosa cell human chorionic gonadotropin binding in swine. **Biology of Reproduction**, v. 43, p. 1-7, 1990.

MATSUNAGA, N.; ARAKAWA, N.T.; GOKA, T.K.T.; NAM, A.; OHNEDA, Y.; SASAKI; KATO, K. Effects of ruminal infusion of volatile fatty acids on plasma concentration of growth hormone and insulin in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, p. 17-27, 1999.

MAURASSE, C.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Ovarian follicular populations at two stages of an oestrus cycles given high energy diets. **Journal of Animal Science**, v. 61, p. 1194-1200, 1985.

MCCANN, J.P.; HANSEL, W. Relationship between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. **Biology of Reproduction**, v. 34, p. 630-641, 1986.

MCEVOY, T.G.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P.; FINDLAY, P.A.;

PALMER, R.M.; ROBERTSON, I.S. Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 89-107, 1995.

MOLLE, G.; BRANCA, A.; LIGIOS, S. Effect of grazing background and flushing supplementation on reproductive performance in Sarda ewes. **Small ruminant Research**, v. 17, p. 245-254, 1995.

MURPHY, B.D. Models of luteinization. **Biology of Reproduction**, v.63, p.2-11, 2000.

MURPHY, M.G.; ENRIGHT, W.J.; CROWE, M.A.; MCCONNELL, K.; SPICER, L.J.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Effects of dietary on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 92, p. 333-338, 1991.

NOLAN, R.; O'CALLAGHAN, D.; DUBY, R.T.; LONERGAN, P.; BOLAND, M.P. The influence of short-term changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. **Theriogenology**, v. 50, p. 1263-1274, 1998.

O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 299-314, 1999.

O'CALLAGHAN, D.; YAAKUB, H.; HYTTEL, P. Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition hormone concentration in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 118, p.303-313, 2000.

RHIND, S.M.; SCHANBACHER, B.D. Ovarian follicle populations and ovulations

rates of finish landrace cross ewes in different nutritional states and associated profiles of gonadotrophins, inhibin, growth hormone (Gh) and insulin-like growth factor. **Domestic Animal Endocrinology**, v.8, p. 281-291, 1991.

ROBINSON, J.J.; SINCLAIR, K.D.; MCEVOY, T.G. Nutritional effects on foetal growth. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 315-332, 1999.

SANTOS, J.E.; AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. **Arquivos da Sociedade Brasileira de Veterinária**, v. 9, p. 187-197, 1992.

SHAW, D.W.; FARIM, P.W.; WASHBURN, J.H.; BRIT. Effect of retinol palmitate rate and embryo quality in superovulated cattle. **Theriogenology**, v.44, p. 51-58, 1995.

SHORT, R.E.; ADAMS, D.C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, p. 29-39, 1988.

SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. p.380.

SINCLAIR, K.D.; SINCLAIR, L.A.; ROBINSON, J.J. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.78, p. 2659-2669, 2000.

SPICER, L.J.; ECHTERNKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, p.223-245, 1995.

SPICER, L.J.; CROWE, M.A.; PRENDIVILLE, D.J. Systemic but not intraovarian concentrations insuline-like growth factor-I are affected by short-term

fasting. **Biology of Reproduction**, v. 46, p.920-925, 1992.

SPICER, L.J.; ENRIGHT, W.J.; MURPHY, M.G.; ROCHE, J.F. Effect of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor-I plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 8, p.431-437, 1991.

SPITZER, J.C.; NISWENDER, G.D.; SEIDEL, G.E.; WILTBANK, J.N. Fertilization and blood levels progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. **Journal of Animal Science**, v. 46, p.1071-1077, 1978.

SIMPSON, R.B.; CHASE JUNIOR, C.C.; SPICER, L.J.; VERNON, R.K.; HAMOND, A.C.; RAE, D.O. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 83-492, 1994.

TELENI, E.; ROWE, J.B.; CROCKER, H.P. Lupins and energy-yielding nutrients in ewe. II. Response in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and aminoacids. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 1, p. 117-125, 1989.

THOMAS, M.G.; WILLIAMS, G.L. Metabolic hormone secretion and FSH-induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated or polyunsaturated fatty acids. **Theriogenology**, v. 45, p. 451-458, 1996.

WALTERS D.L.; SCHAMS, D.; SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the

luteal phase of the oestrus cycle in the cow.
Journal of Reproduction and Fertility, v.
89, p. 479-491, 1984.

WEBB, R.; GOSDEN, R.G.; TELFER,
E.E.; MOOR, R.M. Factors affecting
folliculogenesis in ruminants. **Journal of
Animal Science**, v. 68, p. 257-284, 1999.

YAAKUB, H.; O'CALLAGHAN, D.;
BOLAND, M.P. Effect of type and quality
of concentrates on superovulation and
embryo yield in beef heifers.
Theriogenology, v.51, p.1259-1266, 1999.

Data de recebimento: 19/10/2007

Data de aprovação: 12/05/2008