

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-graduação em Zootecnia**

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL DE VACAS F1
HOLANDÊS-ZEBU DURANTE O PRÉ E PÓS-PARTO E SUA
RELAÇÃO COM A REPRODUÇÃO**

RODRIGO TAVEIRA PEIXOTO

Belo Horizonte

2011

Escola de Veterinária - UFMG

Rodrigo Taveira Peixoto

**PERFIL METABÓLICO E HORMONAL DE VACAS F1
HOLANDÊS-ZEBU DURANTE O PRÉ E PÓS-PARTO E SUA
RELAÇÃO COM A REPRODUÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção animal

Orientadora: Profa. Sandra Gesteira Coelho

Co-orientadores: Profa. Ângela Maria Quintão Lana

Dr. José Reinaldo Mendes Ruas

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2011**

Dissertação defendida e aprovada no dia 27 de junho de 2011 pela comissão examinadora composta pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Dr. Bolivar Nóbrega de Faria

Prof. Helton Mattana Saturnino

Prof. Sandra Gesteira Coelho

Dedico este trabalho à minha esposa,
Luciana W. Myrrha, que sempre esteve ao
meu lado nesta incansável caminhada em
busca de nossos sonhos.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela graça de mais uma etapa alcançada;

À minha orientadora, Professora Sandra Gesteira Coelho, meus sinceros agradecimentos por ter me dado a oportunidade e ter me recebido na Escola de Veterinária. Agradeço também pelo apoio e pelas críticas que contribuíram muito para meu crescimento profissional;

À co-orientadora, Professora Ângela Maria Quintão Lana, pelo apoio nas análises estatísticas e auxílio nas interpretações dos resultados, essenciais, para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao co-orientador, Dr. José Reinaldo Mendes Ruas, pelas críticas e sugestões importantes para o desenvolvimento deste trabalho;

À FAPEMIG pelo apoio financeiro e à EPAMIG por disponibilizar infra-estrutura e animais para a realização do experimento;

Aos funcionários e amigos da Fazenda Experimental da EPAMIG, Felixlândia-MG, em especial Bruno, Geraldo e Aloísio, que me ajudaram muito na condução do experimento.

Ao Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais e, em especial, à técnica Sra. Janine Costa Ivo pela realização das análises dos metabólitos e hormônios.

À Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais pela flexibilidade para que eu pudesse realizar o mestrado;

À minha esposa, Luciana, pela paciência e pelo incentivo que foram o suporte indispensável para que eu pudesse terminar.

Aos meus pais e familiares pelo carinho e apoio que me ajudaram a concretizar esta etapa da minha vida;

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 2 |
| 2.1. Efeito da produção de leite e modificações metabólicas no pós-parto e suas relações com o desempenho reprodutivo..... | 2 |
| 2.1.2. O papel do eixo somatotrófico no metabolismo e suas relações com a reprodução..... | 4 |
| 2.1.3. Balanço energético negativo..... | 6 |
| 2.1.4. Hipoglicemia, hipoinsulinemia e resistência do organismo à insulina no pós-parto imediato..... | 9 |
| 2.1.5. Progesterona no pós-parto e sua relação com a reprodução..... | 12 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 12 |
| 3.1. Localização geográfica e condições climáticas..... | 12 |
| 3.2. Animais e delineamento experimental..... | 13 |
| 3.3. Manejo das vacas no período pré-parto..... | 14 |
| 3.4. Manejo das vacas no período pós-parto..... | 14 |
| 3.5. Variáveis biométricas..... | 15 |
| 3.6. Avaliações de hormônios e metabólitos..... | 16 |
| 3.7. Manejo reprodutivo..... | 18 |
| 3.8. Análise estatística..... | 18 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 19 |
| 4.1. Produção de leite, sólidos do leite e contagem de células somáticas..... | 19 |
| 4.2. Peso e escore de condição corporal..... | 25 |
| 4.3. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não-esterificados..... | 30 |
| 4.4. Concentrações plasmáticas de glicose..... | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 4.5. Concentrações plasmáticas de insulina..... | 32 |
| 4.6. Concentrações plasmáticas de progesterona, primeira ovulação pós-parto e período de serviço..... | 34 |
| 5. CONCLUSÃO..... | 37 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 37 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1. | Mudanças de GH e IGF-1 no plasma, e de GHR no fígado dois dias antes do parto e após o parto..... | 5 |
| Figura 2. | Temperatura ambiental média e pluviosidade na fazenda EPAMIG durante o ano de 2010..... | 13 |
| Figura 3. | Produção de leite por vacas F1 Holandês -Zebu em função dos dias em lactação..... | 19 |
| Figura 4. | Variação da percentagem de lactose no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação..... | 21 |
| Figura 5. | Variação da percentagem de gordura no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação..... | 22 |
| Figura 6. | Variação da percentagem de proteína no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação..... | 23 |
| Figura 7. | Variação da percentagem de sólidos totais de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação..... | 24 |
| Figura 8. | Valor energético do leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação..... | 25 |
| Figura 9. | Variação do peso corporal de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias avaliados..... | 26 |
| Figura 10. | Variação do escore de condição corporal de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias avaliados..... | 29 |
| Figura 11. | Variação nas concentrações de AGNE de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias avaliados..... | 30 |
| Figura 12. | Mudanças de glicose no plasma de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias avaliados..... | 32 |
| Figura 13. | Mudanças nas concentrações de insulina no plasma de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias avaliados..... | 32 |
| Figura 14. | Mudanças nas concentrações de progesterona no plasma de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias avaliados..... | 34 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabela 1. | Ordem de partos e números de animais que constituem as bases genéticas Gir e Guzerá utilizadas..... | 13 |
| Tabela 2. | Ingredientes utilizados no concentrado nitromineral pré-parto..... | 14 |
| Tabela 3. | Níveis nutricionais do concentrado utilizado para os animais da fazenda durante o período pós-parto..... | 15 |
| Tabela 4. | Médias de produção de leite, gordura, proteína, lactose, sólidos totais, energia no leite e contagem de células somáticas (CCS) durante o período pós-parto de vacas F1 Holandês x Zebu..... | 20 |
| Tabela 5. | Médias de peso corporal, escore de condição corporal (ECC) e das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE), glicose, insulina e progesterona no pré e pós-parto de vacas F1 Holandês x Zebu..... | 27 |

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a mobilização de reservas corporais e perfil metabólico e hormonal durante o período de transição em vacas mestiças Holandês x Zebu, bem como a produção e composição do leite e as concentrações de progesterona para indicar retorno à atividade ovariana no pós-parto (corpo lúteo ativo). Dezesete vacas mestiças Holandês x Zebu, com três a oito partos e média de 4.130 kg de leite/lactação, com data de parição entre junho e julho de 2010, foram utilizadas neste experimento. Amostras de sangue foram coletadas para medir as concentrações de glicose, insulina, AGNE e progesterona. A amostragem foi realizada nos dias dez e cinco pré-parto e dois, cinco, dez pós-parto, e depois semanalmente até 60 dias em lactação (DEL). O peso e o escore de condição corporal (ECC) também foram registrados nos mesmos dias. A medida da produção de leite e a amostragem para composição do leite foram realizadas semanalmente até os 60 DEL. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para a análise estatística, com análise de variância, e as médias testadas com SNK ($P = 0,05$). A produção de leite foi de $18,7 \pm 3,6$ kg/dia (4,1% de gordura, 3,2% de proteína, 4,6% de lactose, 12,8% de sólidos totais). Menor peso e ECC ocorreram no segundo dia pós-parto. As concentrações de AGNE foram maiores entre dois e 17 dias pós-parto ($0,484 \pm 0,425$ mmol/L), o que mostra que esse foi o período mais intenso de balanço energético negativo. Menor concentração de insulina foi observado em cinco dias pós-parto ($6,6 \pm 3,0$ mU/mL) ($P < 0,05$) e maior concentração de glicose no segundo dia pós-parto ($66,1 \pm 10,6$ mg/dL) ($P < 0,05$). Após o parto, as concentrações de progesterona foram baixas até 38 DEL, quando foi de $1,03 \pm 0,77$ ng/mL, indicando existência de corpo lúteo funcional.

PALAVRAS-CHAVE: metabolismo, período de transição, reprodução, vaca de leite

ABSTRACT

The aim of this study was evaluate mobilization of body reserves and metabolic and hormonal profile during transition period in crossbred Holstein Zebu cows, as well as measure milk production and composition and progesterone concentrations postpartum to indicate return to ovarian activity (active corpus luteum). Seventeen crossbred Holstein Zebu cows (parity three to eight; 4,130 kg milk/lactation), with calving date between June and July 2010, were used in this experiment. Blood samples were collected to measure glucose, insulin, NEFA and progesterone concentrations. Sampling was at days ten and five prepartum and two, five, ten, and then weekly postpartum until 60 days in milk (DIM). Weight and body condition score (BCS) were also recorded on the same days. Milk production measure and sampling for composition were performed weekly until 60 DIM. A randomized block design was utilized for statistical analysis, with analysis of variance and means tested with SNK ($P=0.05$). Milk production was 18.7 ± 3.6 kg/day (4.1% fat, 3.2% protein, 4.6% lactose, 12.8% total solids). Lowest weight and BCS occurred on day two postpartum. NEFA concentrations were highest between two and 17 days postpartum (0.484 ± 0.425 mmol/L), what shows this was the most intense period of negative energy balance. Lowest insulin concentration was observed in day five postpartum (6.6 ± 3.0 μ U/mL) ($P<0.05$) and highest glucose concentration at day two postpartum (66.1 ± 10.6 mg/dL) ($P<0.05$). After calving, progesterone concentrations were low until 38 DIM, when it reached 1.03 ± 0.77 ng/mL, indicating existence of functional corpus luteum.

KEY WORDS: metabolism, transition period, reproduction, milk cow.

1. INTRODUÇÃO

A intensa seleção genética de vacas leiteiras nas últimas décadas tem aumentado significativamente a produção de leite em todo o mundo (Gong et al., 2002). Porém, existem evidências que esse aumento na produção de leite por vaca está acompanhado por várias consequências adversas como aumento de distúrbios metabólicos e redução no desempenho reprodutivo (Gong et al., 2002; Berry *et al.*, 2003; Garcia-Ispierto et al., 2007). Esse é um problema aparentemente mundial em diversas combinações de sistemas de produção de leite, como por exemplo, sistemas típicos de vacas confinadas de alta produção da América do Norte e o sistema típico de menor produção sob pastejo da Nova Zelândia, o qual vacas selecionadas para alta produção têm sido introduzidas nas últimas décadas (Leroy et al., 2008a). Isso indica que a redução da fertilidade não é causada simplesmente por mudanças no manejo, mas também por mudanças no genótipo e, conseqüentemente, nos processos metabólicos durante o progresso genético em direção ao melhoramento do potencial para maior produtividade de leite (Gutierrez et al., 2006).

Animais mestiços oriundos do cruzamento entre raças *Bos taurus* x *Bos indicus* são utilizados no Brasil para produção leiteira. O sistema de produção geralmente envolve manejo com ou sem a presença do bezerro, com ampla variação no suplemento alimentar, manejo dos pastos, controle sanitário e manejo reprodutivo. Devido suas características de adaptação, representam, muitas vezes, a melhor escolha para a exploração leiteira (Madalena, 1992). Apesar das diferenças entre esses animais, os manejos reprodutivo e de alimentação adotados se baseiam em pesquisas realizadas com rebanhos leiteiros *Bos taurus*, tendo poucas pesquisas direcionadas a conhecer o perfil metabólico e hormonal em animais zebuínos ou de composição genética F1 Holandês-Zebu. Animais dessa composição genética apresentam menor produção de leite, menor persistência e duração da lactação e retorno a atividade ovariana pós-parto tardio, quando comparados a animais de origem européia.

Dessa forma esse trabalho teve como objetivo conhecer as mudanças metabólicas e hormonais durante os períodos pré e pós-parto de vacas mestiças F1 Holandês-Zebu, assim como a produção e composição do leite e suas associações, e ainda observar no pós-parto quando as concentrações de progesterona atingiam valores representativos de um corpo lúteo ativo indicando primeira ovulação e o período de serviço.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Efeito da produção de leite e modificações metabólicas no pós-parto e suas relações com o desempenho reprodutivo

O desenvolvimento folicular ovariano é um processo dinâmico caracterizado pela emergência de sucessivas ondas controladas pelo eixo Hipotalâmico-hipofisário-ovariano (Fortune, 1994; Ginther et al., 1996; Webb et al., 2004). Envolve a proliferação e a diferenciação das células foliculares que são induzidas hormonalmente, com habilidade crescente dos folículos em produzir estradiol e responder às gonadotrofinas (FSH e LH). A produção de estradiol determina qual folículo obterá quantidade de receptores para LH necessária para ovulação e luteinização das células foliculares (Hafez & Hafez, 2004).

No final da gestação o eixo hipotalâmico-hipofisário é suprimido pela progesterona e estradiol secretados pela placenta. As altas concentrações desses esteróides inibem a produção de GnRH pelo hipotálamo, resultando em inadequada estimulação da adeno-hipófise em sintetizar e secretar o LH (Nett, 1987).

Para o restabelecimento da atividade ovariana cíclica no pós-parto, é necessário que ocorra a restauração desse eixo, até que os pulsos de LH liberados na circulação tenham amplitude e frequência suficientes para estimular o crescimento e a maturação folicular (Figueiredo et al., 2000). No entanto, outros fatores também podem estar envolvidos nos processos metabólicos de regulação da função ovariana, como o eixo somatotrófico (Lucy et al., 2001; Etherton, 2004), o balanço energético negativo (Beam & Butler, 1999; Drackley et al., 2006; Lucy, 2008) e a insulina (Gong & Webb, 1996; Lucy, 2008).

Alguns autores demonstraram as relações desses fatores com produção de leite e suas implicações na reprodução. A primeira ovulação e, portanto, a volta à ciclicidade normal no período pós-parto está atrasada em vacas selecionadas para alto mérito genético para produção de leite. Existe associação do alto mérito genético para produção de leite com baixa circulação plasmática de insulina (Gong & Webb, 1996; Gong et al., 2002), balanço energético negativo severo (Butler et al., 1981) e baixa concentração plasmática do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) no início da lactação (Etherton, 2004; Lucy et al., 2009). Além desses fatores, existem outros, como por exemplo, a mudança secretória de leptina e neuropeptídeo-y que também possuem importância no controle metabólico e reprodutivo de vacas leiteiras no período pós-parto (Jorritsma et al., 2003).

O produto do cruzamento de bovinos de raças especializadas com zebuínos, para produção de leite, tem sido o caminho utilizado no Brasil para produção de leite com menos distúrbios metabólicos e, conseqüentemente, melhor desempenho reprodutivo.

Vacas mestiças pluríparas produzem menos leite, 3.673 litros de leite em 269 dias de duração da lactação (Freitas et al., 2001), quando comparadas com vacas de alto mérito genético para produção de leite (> 7000 litros). Madalena (1992) demonstrou que no Brasil, o rebanho mestiço é responsável por grande parte da produção leiteira, devido à melhor adaptação desses animais ao meio ambiente. No entanto, têm-se pouco conhecimento sobre o retorno pós-parto à atividade ovariana em vacas mestiças. Em importante estudo visando avaliar causas de infertilidade de vacas mestiças leiteiras, na Zona da Mata de Minas Gerais, Ferreira et al. (1992) caracterizaram o anestro pós-parto como a principal causa de infertilidade. Estudos nacionais demonstram eficiência reprodutiva variada de vacas mestiças, com períodos de serviço entre 90,5 e 190 dias e intervalos de parto de 12 a 15,8 meses (Ruas et al., 2007; Carvalho, 2009).

Ao avaliar o efeito de diferentes fatores fisiológicos e de meio ambiente sobre a produção de leite de vacas mestiças de vários “graus de sangue”, Junqueira Filho et al. (1992) observaram produção de leite próxima a 3.000 litros avaliando 395 lactações. Vários são os fatores que influenciam a produção de leite desses animais, como origem dos animais, época de parição e manejo nutricional e o “grau de sangue”. Vacas que pariram nos meses de junho, julho e agosto produziram mais leite do que as que pariram no período chuvoso. Vacas que pariam na época seca recebiam silagem de milho e maior quantidade de concentrado. Por outro lado, vacas que pariam na estação chuvosa foram mantidas a pasto, tendendo a encerrar a lactação na época da seca, quando recebiam a alimentação do grupo de menor produção, constituída de cana-de-açúcar picada e menor quantidade de concentrado.

Carvalho (2009), avaliando e comparando dois manejos nutricionais e diferentes bases genéticas de vacas F1 Holandês x Zebu, observou que durante a estação chuvosa a produção de leite foi de $3.606,76 \pm 966,72$ kg, em $293,12 \pm 60,10$ dias de lactação, com $142,97 \pm 47,74$ kg de gordura e $117,06 \pm 28,95$ kg de proteína. Por outro lado, durante a estação seca, a produção de leite foi de $4.096,17 \pm 936,16$ kg, em $285,42 \pm 38,99$ dias de lactação, com $164,86 \pm 38,59$ kg de gordura e $131,93 \pm 29,25$ kg de proteína.

Outro importante efeito observado por Junqueira Filho et al. (1992), foi da ordem de lactação. A eficiência máxima de produção de leite ocorreu nas vacas a partir da quinta lactação, com a primeira lactação equivalendo a 69,8% e a segunda lactação equivalendo a 85,7% da produção máxima.

Segundo Oliveira et al. (2007), vacas mestiças possuem curva de lactação sem fase ascendente característica com aspecto linear e duração média de 270 dias.

O número de células epiteliais mamárias e suas atividades secretórias determinam a forma da curva de lactação dos animais. Em bovinos o aumento da atividade secretória das células epiteliais mamárias aumenta a produção de leite até o pico da lactação. Após o pico, a redução numérica dessas células reduz a produção de leite.

Alguns fatores externos como fotoperíodo, administração de somatotrofina bovina recombinante, aumento da frequência diária de extração de leite e administração de anti-oxidantes podem aumentar a renovação e a atividade secretória das células epiteliais mamárias. Outros fatores como alta contagem de células somáticas no leite, toxinas, estresse, extração incompleta de leite durante a ordenha e baixo fluxo sanguíneo e tensão de oxigênio podem reduzir a renovação e a atividade secretória das células epiteliais mamárias. Assim, a glândula mamária cresce quando a taxa de proliferação excede a taxa de apoptose celular, regride quando ocorre o inverso, e mantém o número de células constantes quando as taxas de proliferação e apoptose são iguais (Capuco et al. 2003).

2.1.2. O papel do eixo somatotrófico no metabolismo e suas relações com a reprodução

O controle da partição de nutrientes em vacas leiteiras no início da lactação é estabelecido pelo estado em que se encontra o eixo somatotrófico, sendo um processo fisiológico essencial para a produção de leite (Bauman & Currier, 1980). O mesmo é constituído pelo hormônio do crescimento (GH), pelo receptor do GH (GHR), pelo IGF-1, e pelas proteínas ligadoras de IGF-1 (IGFBP) (Lucy et al., 2001; Etherton, 2004).

O GH é secretado pela adeno-hipófise e sua ação no fígado é aumentar a síntese e secreção de IGF-1 (Hafez & Hafez, 2004). Esse, por sua vez, age como hormônio endócrino que controla a secreção de GH por meio de sistema de *feedback* negativo (Le Roith et al., 2001; Etherton, 2004), ou seja, quanto maior a secreção de IGF-1, menor será a secreção de GH pela adeno-hipófise. Outra importante função do GH e do IGF-1 é controlar o crescimento e a lactação (Renaville et al., 2002). Além disso, o IGF-1 pode intensificar a ação das gonadotrofinas (LH e FSH) pela potencialização da função dos receptores de gonadotrofinas nos folículos (Webb et al., 2004).

As ações do GH são mediadas pelos GHR. As maiores concentrações de GHR são encontradas no fígado e o segundo local mais abundante é o tecido adiposo (Lucy, 2008). O primeiro RNAm transcrito para GHR no fígado é o GHR 1A, cuja expressão foi altamente correlacionada com a ligação de GH no fígado e síntese de IGF-1 nos hepatócitos (Radcliff et al., 2003). Existem outros tipos de receptores de GH no fígado, GHR 1B e GHR 1C, no entanto esses outros receptores quando comparados com GHR 1A, são geralmente menos dinâmicos em suas expressões e são fracamente correlacionados com IGF-1 (Radcliff et al., 2003).

Este importante eixo de sinalização metabólica está desacoplado em vacas de alta produção leiteira no início da lactação. Como consequência, a expressão de mRNA para GHR 1A fica reduzida e o fígado não consegue responder ao GH e produzir quantidades suficientes de IGF-1, o que altera a função reprodutiva (Lucy, 2008; Lucy et al., 2009). Observou-se maiores concentrações plasmáticas de IGF-1 em vacas de corte cíclicas do que em vacas não cíclicas (Roberts et al., 1997). Essa baixa

concentração plasmática de IGF-1 proporciona alta concentração de GH devido à reduzida ação do *feedback* negativo do IGF-1 durante esse período (Lucy et al., 2001; Radcliff et al., 2003; Lucy, 2008; Lucy et al., 2009).

A quantidade de RNAm para GHR 1A no fígado diminui aproximadamente dois dias antes do parto, permanecendo baixa por aproximadamente uma semana e aumenta lentamente após a segunda semana pós-parto. O perfil da expressão de mRNA para IGF-1 é similar ao GHR 1A (reduzido após o parto), porém a redução da concentração de IGF-1 após o parto é mais lenta que o declínio de mRNA para GHR 1A (Figura 1). Esse atraso pode refletir a dependência do IGF-1 hepático sobre o GH e o GHR 1A (Lucy, 2008).

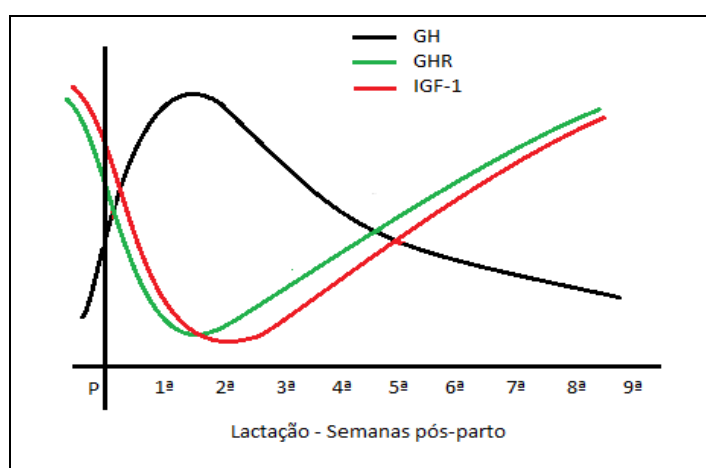


Figura 1. Mudanças nas concentrações de GH e IGF-1 no plasma, e de GHR no fígado dois dias antes do parto e após o parto (P = parto).

Adaptado de Lucy (2008).

Estudos *in vivo* têm demonstrado diferenças na secreção de GH quanto ao mérito genético para produção de leite. Lucy et al. (2009), comparando vacas da raça Holandês norte americanas da década de 90 (NA90) (alto mérito genético para produção de leite) com vacas originárias na Nova Zelândia da década de 90 (NZ90) (médio mérito genético para produção de leite), observaram que as vacas NA90 tiveram maior concentração plasmática de GH nas primeiras nove semanas de lactação. Segundo Chagas et al. (2007), a estimulação da produção de GH pode estar associada com inibição da secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) no hipotálamo e isso poderia influenciar o desempenho reprodutivo.

Vários tecidos são afetados pelo GH, porém eventos coordenados no fígado e no tecido adiposo são os mais importantes na lactação (Bell, 1995). No fígado, o aumento do GH circulante durante o período pós-parto estimula aumento da gliconeogênese, objetivando atender a demanda de glicose pela glândula mamária para a síntese de lactose. Dessa forma, o aumento da concentração de GH direciona os nutrientes para a glândula mamária e produção de leite (Buckley et al., 2003; Lucy, 2008).

No tecido adiposo, o GH promove a lipólise e impede a lipogênese e bloqueia a captação de glicose por tecidos dependentes de insulina. O GH facilita a lipólise durante o começo da lactação (Etherton & Bauman, 1998), o que explica porque vacas de alto mérito genético para produção de leite perderam escore da condição corporal (ECC) de forma mais acentuada comparadas com vacas de baixo mérito genético para produção de leite (Buckley et al., 2003; Roche et al., 2006; MacDonald et al., 2008; Lucy et al., 2009).

O efeito do IGF-1 *in vivo* no fluido folicular e no sangue é mediado pelas proteínas transportadoras de IGF-1 denominadas proteínas ligadoras de IGF (IGFBPs). O IGF-1 circulante é ligado a, pelo menos, seis diferentes IGFBPs para seu transporte até o tecido alvo. O efeito resultante de determinada concentração de IGF-1, juntamente com certa concentração e composição de IGFBP ainda não está totalmente compreendido. No entanto, sabe-se que a quantidade e o tipo de IGFBPs no plasma podem mudar com o status fisiológico e metabólico do animal (depende do balanço energético negativo e da nutrição) e pode potencialmente afetar a capacidade de transporte do IGF-I pelo sangue e pela rota extra-vascular modificando a sua interação com seus receptores no tecido alvo (Etherton, 2004; Lucy et al., 2009).

Sob condição fisiológica normal, a presença de IGF-I no fluido folicular poderia ser produzida por fontes endócrinas e locais (Rivera & Fortune, 2003). O fluido folicular de um folículo dominante saudável desenvolve atividade proteolítica contra IGFBP-4 e -5 e contém principalmente IGFBP-3, enquanto que o fluido folicular de folículos subordinados contém quantidades aumentadas de proteínas ligadoras de baixo peso molecular (IGFBP-2, -4 e -5). A expressão das proteínas ligadoras de baixo peso molecular também tem sido associadas com a atresia folicular (Rivera & Fortune, 2003).

Também não está claro se alta concentração sistêmica de IGF-1 sempre favorece a reprodução, porque estudos em camundongos revelaram que em vez da produção sistêmica de IGF-1, o IGF-1 produzido localmente pode ser mais importante para o desenvolvimento folicular (Lucy, 2000).

2.1.3. Balanço energético negativo

Durante o início da lactação, o requerimento energético para produção de leite e manutenção de uma vaca leiteira excede a disponibilidade energética do alimento ingerido. A escassez de energia resultante do desequilíbrio entre entrada de energia pelo alimento ingerido e a necessidade de energia é denominado balanço energético negativo (Jorritsma et al., 2003). Assim, o grande entrave para proporcionar o atendimento das demandas energéticas no período pós-parto devido à lactação é a limitada capacidade de ingestão de matéria seca nos períodos antes do parto e nas primeiras semanas de lactação (Vazquez-Añon et al., 1994; Drackley et al., 2006; Leroy et al., 2008b). Essa limitação e o alto gasto energético devido a crescente produção de leite no início da lactação levam a hipoglicemia e hipoinsulinemia e ao

balanço energético negativo, culminando em mobilização de tecido adiposo (suporte energético), aumento das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados, corpos cetônicos, esteatose hepática e prolongado intervalo entre o parto e a primeira ovulação (Grummer, 1991; Fonseca et al., 2003; Drackley et al., 2006). Existem indícios, em estudos *in vivo*, de que menor captação de energia no início da lactação e parâmetros metabólicos que refletem estado metabólico ruim (estado catabólico) de uma vaca, estão relacionados com prolongado intervalo à primeira ovulação (Opsomer et al., 1998).

Os caminhos energéticos que oferecem energia para o perfeito funcionamento do sistema reprodutivo estão comprometidos no estado metabólico com o balanço energético negativo e alta produção leiteira, culminando em baixo desempenho reprodutivo (Chilliard et al., 1998; Roche et al., 2007). A presença de atividade ovariana durante certo período antes da primeira inseminação ou cobertura é importante, uma vez que, a taxa de concepção em vacas lactantes aumenta quando o período de atividade ovariana que precede a inseminação é mais longo (Butler & Smith, 1989). Por outro lado, a energia requerida para o desenvolvimento, maturação e ovulação de um folículo para formação de um corpo lúteo e para manter a fase inicial da gestação é insignificante, comparada à demanda energética para a produção e manutenção da lactação (Snijders et al., 2000; Leroy et al., 2006).

Desse modo, Leroy et al. (2006) citam que é mais razoável supor que as alterações metabólicas causadas pelo balanço energético negativo e pelos produtos desse tráfego energético do trato digestivo e reservas corporais em direção ao úbere são responsáveis pela deteriorização das sinalizações endócrinas entre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal-uterino e das funções reprodutivas em vacas leiteiras de alta produção, do que escassez de energia. Provavelmente, esses problemas causados pelo balanço energético negativo parecem ocorrer também em vacas mestiças com menor mérito genético para produção de leite. Em estudo conduzido por Lara (1985) em vacas mestiças, observou-se a primeira ovulação aos 27,3 dias após o parto. No entanto, o período de serviço médio foi de 98,1 dias, mostrando que, provavelmente, a qualidade dos folículos e, conseqüentemente, do oócito e/ou do corpo lúteo formado parecem estar prejudicados no pós-parto daquelas vacas.

Formigoni et al. (1996), citam ser o balanço energético negativo, devido às alterações metabólicas associadas, tais como hipoglicemia, hipoinsulinemia, baixa produção de GnRH e IGF-I, menor frequência de pulsos de LH e menor concentração de progesterona na fase luteal, o responsável pelo baixo desempenho reprodutivo de vacas leiteiras. Vacas que são geneticamente superiores para produzir leite possuem maior balanço energético negativo e maior mobilização de gordura corporal no pós-parto imediato e menor ECC no início da lactação (Veerkamp et al., 1994; Buckley et al., 2003) e durante toda a lactação (Buckley et al., 2003). Vacas com baixo ECC ou que falham em aumentar a condição corporal durante a lactação possuem baixa

concentração plasmática de IGF-I e insulina durante o período reprodutivo e demonstram atraso da primeira ovulação pós-parto (Gong et al. 2002; Chagas et al., 2007).

O ECC é uma maneira subjetiva de se avaliar as reservas energéticas da vaca, sendo realizado por inspeção da pelve e inserção da cauda, costelas e lombo, atribuindo-se o escore numa escala de 1 a 5 pontos segundo Edmonson et al. (1989), sendo 1, muito magra e 5, obesa. A intensa perda de ECC no período pós-parto de vacas de alto mérito genético para produção de leite indica que no início da lactação, elas tiveram balanço energético negativo muito mais longo e severo quando comparadas com vacas de baixo mérito genético (MacDonald et al., 2008). Esses resultados corroboram com achados de outros autores como, por exemplo, Horan et al. (2005), que têm demonstrado que vacas de alto mérito genético para produção de leite perdem mais ECC no pós-parto e atingem seu ponto máximo de perda do ECC mais tarde que vacas de baixo mérito genético. Demonstraram ainda que vacas de baixo mérito genético para produção de leite tiveram maior ECC imediatamente pós-parto (3,37), no ponto mais baixo do balanço energético negativo (2,84), e na secagem (3,13) quando comparadas com vacas de alto mérito genético para produção de leite que expressaram menores pontuações como, 3,17, 2,45 e 2,68, respectivamente.

Assim, a avaliação da condição corporal das vacas ao parto e suas variações após o parto tem sido um dos indicadores mais importantes no manejo de vacas leiteiras. Vacas que apresentam ECC elevado ao parto, ou seja, maior que 4 pontos em escala de 1 a 5, podem sofrer maior mobilização de tecido adiposo que, somado a queda acima do normal na ingestão de matéria seca, leva a predisposição do desenvolvimento de doenças metabólicas. Vacas que parem com baixo ECC (menor que 3 pontos) possuem intervalo maior entre o parto e a primeira ovulação pós-parto (Butler, 2008).

Além do ECC ao parto, sua variação no terço inicial da lactação é reflexo do estado do balanço energético do animal e também interfere na reprodução. Butler e Smith (1989) demonstraram que vacas que perderam de 0,5 a 1,0 (escala de um a cinco) ponto no ECC, entre o parto e o primeiro serviço, tiveram taxa de concepção no primeiro serviço de 53%, enquanto que aquelas que perderam mais de 1,0 ponto alcançaram somente 17% de concepção. Lopez-Gatius et al. (2003), observaram que vacas da raça Holandês que perderam de 0,5 a 1 ponto no ECC levaram 10,6 dias a menos para conceberem que vacas que perderam mais de 1 ponto no ECC. Além disso, as vacas que perderam de 0,5 a 1 ponto no ECC ovularam aos 36 dias pós-parto, enquanto que as vacas que perderam mais de 1 ponto ovularam aos 50 dias. O balanço energético negativo e a perda de ECC podem provocar alteração no crescimento folicular por alteração no eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano (Lucy, 2000; Gong et al., 2002).

Além dessas alterações, a alta concentração de corpos cetônicos associada com o balanço energético negativo reduz a secreção de GnRH pelo hipotálamo, culminando

em maior período de serviço (Butler & Smith, 1989). Os corpos cetônicos têm sido associados também com depressão do sistema imune, por meio de efeitos tóxicos diretos sobre as células do sistema imune (Hoeben et al., 1997). Elevadas concentrações de corpos cetônicos e AGNE diminuem a habilidade dos leucócitos se multiplicarem em respostas a desafios imunológicos, reduzindo a produção de componentes bactericidas, bem como a capacidade de migração de células de defesa para o local da infecção. Pryce et al. (1999), também relataram a relação existente entre a alta produção de leite e o aumento na incidência clínica de mastite. Dessa forma, os corpos cetônicos, quando em quantidades elevadas, interferem indiretamente no desempenho reprodutivo por meio de doenças como endometrite e mastite (Leroy et al., 2008c).

2.1.4. Hipoglicemia, hipoinsulinemia e resistência do organismo à insulina no pós-parto imediato

No pós-parto imediato ocorre drástica redução nas concentrações plasmáticas de insulina e glicose devido ao balanço energético negativo. Quanto mais profundas essas modificações metabólicas, maiores os efeitos negativos sobre a fertilidade da vaca leiteira (Webb et al., 2004).

A hipoinsulinemia estimula a mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo, já que a insulina é um hormônio responsável pela inibição da ação da enzima lipase hormônio-sensível. A energia gerada por essa mobilização é dirigida para a glândula mamária por meio do aumento do GH plasmático pelo desacoplamento do eixo somatotrófico (Leroy et al., 2008b). Essa é uma adaptação da evolução dos mamíferos para garantir que os nutrientes sejam fornecidos ao neonato pelo leite (Bauman & Currie, 1980; Chagas et al., 2009).

A hipoglicemia das vacas de leite no início do período pós-parto possui efeitos indiretos sobre a fertilidade, pois influencia a secreção de LH e/ou resposta ovariana às gonadotrofinas (Leroy et al., 2008a). Os mesmos autores hipotetizaram que a baixa concentração da glicose plasmática também pode afetar diretamente a qualidade do oócito.

Nas células do cumulus, a glicose é primariamente convertida, via rota glicolítica, em piruvato e lactato, substratos preferidos para a produção de ATP por essas células (Sutton et al., 2003). A glicose que chega aos oócitos é predominantemente metabolizada, via rota da pentose fosfato, para a síntese de RNA e DNA. Apesar do relativamente baixo nível de utilização, a glicose é uma molécula indispensável durante a maturação do oócito, especialmente porque a produção de ATP está envolvida na progressão meiótica e, portanto, é crítica para a capacidade de desenvolvimento do oócito (Cética et al., 2002). Seguindo essa linha, Bilodeau-Goeseels (2006), adicionou glicose para maturação “*in vitro*” de oócitos e observou melhor expansão das células do cumulus e melhor maturação nuclear.

As baixas concentrações de glicose para maturação do oócito observado no fluido folicular de vacas que sofreram de cetose clínica, relacionada ao balanço energético negativo, resultaram em comprometimento do desenvolvimento do oócito (Leroy et al., 2006). Dessa forma, as condições de hipoglicemia, juntamente com o estado metabólico de balanço energético negativo, são refletidas no micro-ambiente do folículo pré-ovulatório e, conseqüentemente, comprometem a capacidade de desenvolvimento do oócito (Leroy et al., 2008a).

A concentração de insulina no sangue também diminui após o parto de vacas leiteiras e existe correlação positiva entre balanço energético negativo e concentração plasmática de insulina (Beam & Butler, 1997). A redução da insulina ocorre, aproximadamente, dois a três dias após a redução da expressão do mRNA para GHR 1A e coincide com a redução da concentração plasmática de IGF-1 (Radcliff et al., 2003).

A insulina tem função de estimular a expressão de GHR no fígado sensibilizando-o a secretar IGF-I, que age como *feedback* negativo sobre a produção e secreção de GH pela hipófise (Butler et al., 2003). A reduzida concentração de insulina no período pós-parto, então, mantém o desacoplamento do eixo somatotrófico por meio de efeitos negativos sobre a expressão de GHR 1A (Rhoads et al., 2004).

Além dessa função, a insulina amplia a resposta folicular às gonadotrofinas e, conseqüentemente, crescimento folicular e, provavelmente, também exerce efeitos estimulatórios diretos na maturação do oócito (Butler & Smith, 1989). Tem sido demonstrado que a primeira ovulação e, portanto, a volta à ciclicidade normal pós-parto está retardada em vacas leiteiras selecionadas para alto mérito genético para produção de leite, a qual está associada com baixa concentração de insulina circulante (Rhoads et al., 2004). Gong et al. (2002) avaliaram diferentes dietas visando aumentar as concentrações plasmáticas de insulina em vacas no início da lactação. Nesse estudo, observaram que o aumento da insulina, além de reduzir o intervalo do parto ao primeiro cio também aumentou a taxa de concepção. Segundo Leroy et al. (2008a), parece que a insulina age como sinal metabólico para o sistema reprodutivo, sinalizando que a condição nutricional é adequada e a concepção pode prosseguir.

No ovário, o crescimento folicular depende de gonadotrofinas (LH e FSH) e também de insulina e IGF-I (Lucy, 2008). A contribuição independente de cada um desses hormônios é difícil de se estabelecer pois existem mudanças coordenadas em cada um deles dependendo do nível alimentar e do balanço energético do animal. A insulina e o IGF-I podem agir no hipotálamo para estimular a secreção de GnRH e, conseqüentemente, controlar a secreção de FSH e LH. Hipoteticamente, os mecanismos que aumentam a pulsatilidade de LH pelas suas ações sobre o hipotálamo e a hipófise também podem afetar a capacidade de respostas dos ovários às gonadotrofinas (Lucy, 2008). Dessa forma, o efeito coletivo do LH, insulina e

IGF-I agindo no ovário promove o desenvolvimento folicular e a ovulação (Lucy, 2008).

Além da drástica redução na concentração plasmática de insulina, vacas leiteiras em lactação sofrem de resistência à insulina (insensibilidade à insulina manifestada pelas células) no início da lactação e esse estado metabólico conserva a glicose para a síntese de lactose na glândula mamária. Tecidos extra-mamários como os do trato reprodutivo podem ficar prejudicados durante esse período (Cronjé, 2000, citado por Chagas et al., 2009).

Alguns pesquisadores compararam o desempenho reprodutivo de vacas com alto e baixo mérito genético para produção de leite. Vacas da América do norte (NA) (alto mérito genético para produção de leite) produziram mais leite, tiveram maior propensão para mobilizar tecido corporal no início da lactação, baixa capacidade de aumentar o ECC na metade e no terço final da lactação e, em geral, tiveram menor desempenho reprodutivo quando comparadas com vacas originadas da Nova Zelândia (NZ) (baixo mérito genético para produção de leite) (Horan et al., 2005; Roche et al., 2006; MacDonald et al., 2008). Uma hipótese para essa diferença entre linhagens genéticas poderia ser devido à diferença de intensidade de resistência celular à insulina e um resultante aumento na oferta de nutrientes, particularmente de glicose e ácidos graxos, para a glândula mamária a fim de suportar a produção de leite, já que as células da glândula mamária não dependem de insulina para captar glicose circulante (Bauman & Currie, 1980).

A captação de glicose pela glândula mamária é controlada por um transportador denominado GLUT-1, que age independentemente da insulina. No estado de resistência à insulina, os sinais metabólicos da insulina no fígado, músculo, e tecido adiposo estão seletivamente prejudicados (Cronjé, 2000, citado por Chagas et al., 2009).

Os resultados encontrados por Pires et al. (2007) demonstraram que a hiperlipidemia prejudicou a sensibilidade e a responsividade da insulina à glicose em vacas da raça Holandês lactantes. Isso ocorre porque o metabolismo dos AGNE e do triacilglicerol aumentam a disponibilidade intracelular de cadeias longas de acil-coA e diacilglicerol, e esses metabólitos interferem com a cascata de sinais dos receptores de insulina (Lewis et al., 2002). Além disso, a capacidade da insulina inibir a lipase e suprimir a utilização das reservas corporais pode estar prejudicada no estado de resistência à insulina (Lewis et al., 2002). Então, a elevada concentração plasmáticas de AGNE durante o período de transição pode ser o fator chave que controla o desencadeamento da resistência à insulina em vacas leiteiras.

Ainda, altas concentrações plasmáticas de AGNE possuem efeitos tóxicos sobre as células pancreáticas, o que leva à redução da secreção de insulina a concentrações críticas (Cnop et al., 2001). A inclusão *in vitro* de 0,125 mmol/L e 0,250 mmol/L de ácido palmítico exerceu toxicidade e morte de 5% e 15%, respectivamente das

células β pancreáticas de rato em 48 horas de exposição e matou 12% e 43% dessas células em oito dias de exposição. A inclusão *in vitro* de 0,500 mmol/L de ácido palmítico exerceu toxicidade e morte de 54% das células β pancreáticas de rato em 48 horas de exposição e matou todas essas células em oito dias de exposição. A inclusão de ácido oleico na cultura de células β pancreáticas causou toxicidade, porém em menor grau, de 7 a 35% em oito dias de exposição.

2.1.5. Progesterona no pós-parto e sua relação com a reprodução

Concentrações de progesterona (P4) plasmáticas antes e após a inseminação de vacas estão associadas positivamente com a taxa de concepção. No entanto, concentrações plasmáticas intermediárias de P4 antes da primeira ovulação pós-parto podem agir diretamente no hipotálamo e impedir a secreção de GnRH e então impedir o pico de LH. Isso culmina em falha na ovulação e formação de cistos ovarianos. Hatler et al. (2003) demonstraram que em vacas das raças Holandês e Jersey isso tem acontecido. Das vacas que possuíam cisto folicular diagnosticadas por ultrassonografia a partir de 40 dias após o parto, 66% tinham concentrações intermediárias de P4 circulante (entre 0,1 e 1,0 ng/mL).

Observando variações na quantidade plasmática circulante de P4 de vacas leiteiras no período de transição, Hamudikuwanda et al. (1996) demonstraram que quantidades substanciais de P4 podem ser armazenadas no tecido adiposo durante o período gestacional anterior e serem secretadas na circulação com a mobilização do tecido adiposo devido ao balanço energético negativo. Durante a gestação, a placenta secreta grande quantidade de P4. Uma parte desta P4 secretada e presente na circulação sanguínea é sequestrada pelo tecido adiposo e secretado na circulação novamente após o parto com a mobilização do tecido adiposo. Em um experimento realizado em São Paulo utilizando vacas F1 Holandês x zebu, observou-se que vacas que mobilizaram tecido corporal e apresentaram alta concentração plasmática de AGNE também apresentaram maiores concentrações de P4 circulantes (Rodrigues et al., 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, certificado 182/2009.

3.1. Localização geográfica e condições climáticas

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), localizada no município de Felixlândia –

MG, situado a 18°7' de latitude sul e 45° de longitude oeste. O clima de Felixlândia é do tipo tropical de savana, caracterizado por inverno seco (estação seca) e verão chuvoso (estação chuvosa).

O experimento ocorreu na estação seca do ano, abrangendo os meses de junho a setembro, caracterizados por baixas pluviosidades e temperaturas amenas (Figura 2), com queda acentuada da disponibilidade e qualidade das pastagens.

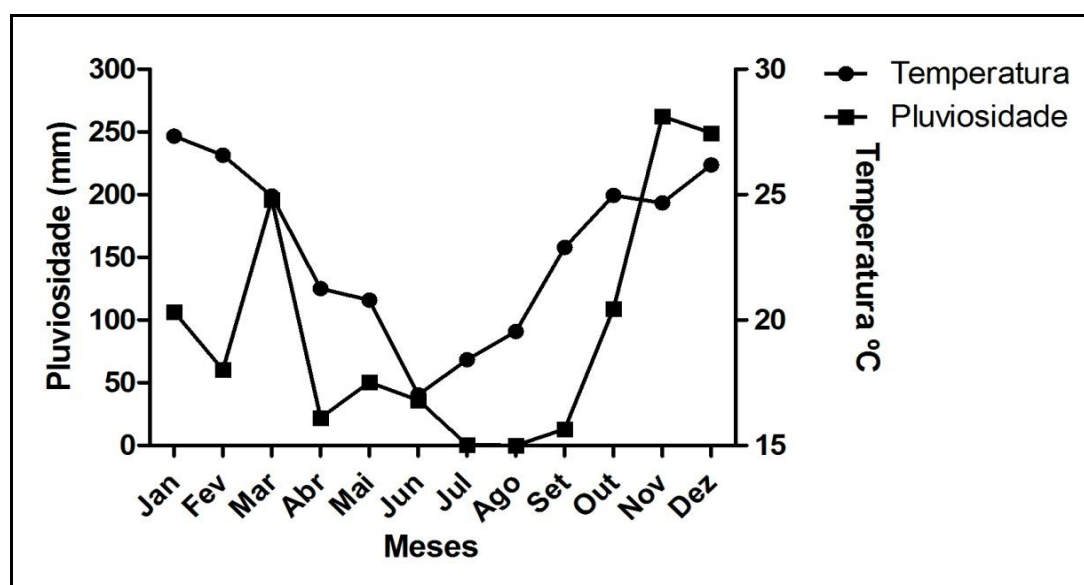


Figura 2. Temperatura ambiental média e pluviosidade na fazenda EPAMIG durante o ano de 2010. Dados obtidos da estação meteorológica da fazenda EPAMIG

Assim, durante esse período, ocorreu suplementação volumosa em cocho, tanto durante o pré-parto, quanto durante o pós-parto.

3.2. Animais e delineamento experimental

Foram utilizadas 17 vacas F1 Holandês x Zebu selecionadas, da terceira a oitava ordens de parto, das bases genéticas Gir e Guzerá (Tabela 1) com partos previstos para os meses de junho e julho de 2010 e produções semelhantes na lactação anterior (média de 4.130 kg).

Tabela 1. Ordem de partos e números de animais que constituem as bases genéticas Gir e Guzerá utilizadas neste experimento

| Ordem de partos | Nº de animais | Gir | Guzerá |
|-----------------|---------------|-----|--------|
| 3º | 1 | 1 | 0 |
| 4º | 1 | 1 | 0 |
| 6º | 2 | 1 | 1 |
| 7º | 3 | 1 | 2 |
| 8º | 10 | 7 | 3 |

3.3. Manejo das vacas no período pré-parto

Durante o período pré-parto as vacas experimentais foram submetidas ao mesmo manejo das outras vacas do rebanho, sendo confinadas em piquete maternidade de 1000 metros quadrados, desprovido de sombra, localizado próximo ao curral, de forma a facilitar a observação das vacas no dia do parto. Tal observação foi realizada duas vezes ao dia pela manhã e a tarde. O piquete era dotado de bebedouro e cocho para alimentação e sal mineral.

Os animais receberam 40 kg de silagem de milho como volumoso e 0,5 kg de concentrado nitromineral (Tabela 2) por vaca/dia, misturado à silagem de milho, sempre no mesmo horário, às 9:00 horas.

Tabela 2. Ingredientes utilizados no concentrado nitromineral pré-parto

| Ingredientes | Quantidade (gramas) |
|-------------------|---------------------|
| Milho moído | 100 |
| Levedura de cana | 200 |
| Uréia pecuária | 118 |
| Calcário | 12,6 |
| Fosfato bicálcico | 4,4 |
| Sulfato de amônia | 25 |
| Sal mineral | 40 |

A cada trato, as sobras do trato anterior foram pesadas, para se ajustar a quantidade de trato fornecida, para ajustar sobra de 3 a 5%.

3.4. Manejo das vacas no período pós-parto

Durante a lactação, as vacas foram submetidas ao mesmo manejo da fazenda quanto à alimentação, movimentação entre lotes e ordenha. Sendo suplementadas com volumoso em pista de alimentação coberta. Na mistura oferecida nessa pista foram utilizados 45 kg de silagem de milho, 1 kg de caroço de algodão e 0,5 kg de concentrado nitromineral (Tabela 2) por animal/dia. Foi fornecido concentrado comercial (Tabela 3) numa proporção de 1 kg para cada 3 kg de leite produzidos, a partir dos primeiros 5 kg de leite produzidos. Enquanto não se tinha o valor de pesagem do leite após o parto, eram fornecidos 6 kg de concentrado/vaca/dia.

O concentrado foi fornecido durante as ordenhas da manhã e da tarde em cochos individuais acoplados ao sistema de contenção da sala de ordenha. As vacas foram identificadas com colares coloridos, e cada cor equivalia à diferente quantidade de concentrado fornecido. A cada 14 dias, os colares e o fornecimento de concentrado

eram ajustados, sendo mudados de acordo com o aumento ou queda na produção de leite.

Tabela 3. Níveis nutricionais do concentrado utilizado para os animais da fazenda durante o período pós-parto

| Composição | Quantidade (%) |
|-------------------------|----------------|
| Umidade | 13,0 |
| Proteína bruta | 22,0 |
| Nitrogênio não protéico | 4,2 |
| Extrato etéreo | 2,0 |
| Fibra bruta | 11,0 |
| Matéria mineral | 6,0 |
| Cálcio | 1,5 |
| Fósforo | 0,5 |

3.5. Variáveis biométricas

O peso e o ECC foram avaliados duas e uma semana antes da data prevista para o parto, no segundo, quinto e décimo dia pós-parto e a cada semana até a 9ª semana pós-parto. A avaliação do ECC foi realizada por inspeção da pelve e inserção da cauda, costelas e lombo, atribuindo-se o escore numa escala de 1 a 5 pontos segundo Edmonson et al. (1989). A pesagem dos animais foi realizada em balança eletrônica da marca COIMA SP 2500 com capacidade para pesar no mínimo 10 kg e no máximo 2.000 kg, com brete de contenção. As pesagens e avaliações de ECC foram sempre realizadas as 13:00 horas por um mesmo avaliador.

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, as 06:00 e às 14:00 horas, em sala de ordenha mecanizada com contenção tipo passagem, circuito fechado com linha média central. A ordenha foi realizada com a presença momentânea dos bezerros, que eram trazidos para o apoio de suas mães. Durante o período experimental, foi reservada uma teta para o bezerro mamar. A ordenha foi considerada encerrada quando cessava o fluxo de leite visualizado no copo coletor do conjunto de ordenha. O controle leiteiro foi realizado semanalmente a partir do 7º dia pós-parto, sendo que no dia da pesagem de leite, todos os quatro tetos eram completamente esgotados, não se reservando nenhum teto para os bezerros.

Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia. Foram realizadas coletas de amostras e pesagens de leite semanalmente entre a 1ª e 9ª semanas pós-parto. A produção de leite foi mensurada após o término da ordenha e homogeneização do leite retido no medidor de leite (Milk Meter®).

Amostras de 50 mL de leite foram obtidas da ordenha da manhã (25 mL) e da tarde (25 mL). Estas amostras foram acondicionadas em recipientes contendo conservante bromopol (2-bromo 2-nitropropano 1,3-diol), na proporção de 10 mg do princípio ativo para 50 mL de leite, sendo então armazenadas a 4-6 °C e enviadas dentro de 72 horas para análise no Laboratório de Análise da Qualidade do Leite (LabUFMG), da Escola de Veterinária da UFMG. A determinação das porcentagens de proteína total, gordura, lactose e contagem de células somáticas (CCS) foram realizadas com o uso da metodologia eletrônica Bentley®.

Para encontrar o momento de maior demanda energética para produção de leite diária, utilizou-se a equação descrita no NRC (2001):

$$\text{Energia no leite (MJ/vaca/dia)} = (0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose}) \times 4.186 \text{ MJ/Mcal} \times \text{kg leite/vaca/dia}$$

3.6. Avaliações de hormônios e metabólitos

Nos mesmos dias das avaliações de ECC e pesagem, coletou-se uma amostra de cinco a sete mL de sangue por vaca, por venopunção coccígea em tubos vacuolizados com anticoagulante (EDTA com fluoreto de sódio). As amostras foram mantidas sob refrigeração até serem centrifugadas por 15 minutos utilizando-se força centrífuga relativa de 2.000g. Após a centrifugação, o plasma foi estocado em microtubos de 1,5 mL, identificados e imediatamente congelados a -20°C em freezer até a determinação das concentrações de progesterona, insulina, glicose e AGNE.

As análises para determinação das concentrações plasmáticas de glicose, progesterona, AGNE e insulina foram realizadas no Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Para a glicose, utilizou-se Kit comercial enzimático colorimétrico (KATAL®) adaptado e validado pelo laboratório de Metabolismo e Endocrinologia do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. As análises foram realizadas em triplicata. Para a determinação, seguiu-se o seguinte procedimento: descongelamento lento das amostras até a temperatura ambiente; agitação dos microtubos em agitador de tubos da marca Vortex; pipetagem de 5µL das amostras, com pipeta de precisão, em poços de microplacas; adição de 200 µL de reagente enzimático, com auxílio de pipeta de repetição; incubação das amostras por 15 minutos em banho-maria a 37°C; leitura das amostras em leitora de microplacas da marca Thermoplate TP-reader. Os resultados foram expressos em mg/mL.

A determinação da progesterona foi realizada utilizando-se kit comercial Elisa (INTERKIT®). As análises foram realizadas em triplicata da seguinte forma: descongelamento lento das amostras até a temperatura ambiente; agitação dos ependorffs em agitador de tubos da marca Vortex; pipetagem de 25 µL de padrões,

controles e amostras nos poços apropriados; pipetagem de 100 μL de Conjugado (preparado) em todos os poços; pipetagem de 50 μL de Anticorpo em todos os poços; homogeneização por meio de movimentos circulares por 20 segundos; incubação por 90 minutos em temperatura ambiente. Após esta etapa desprezou-se o conteúdo dos poços sendo os mesmos lavados cinco vezes com água destilada. A placa foi invertida em papel absorvente, retirando-se o excesso de líquido. Pipetagem de 100 μL de substrato em todos os poços e homogeneização com movimentos circulares por 20 segundos; incubação por 20 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz; pipetagem de 100 μL de solução de bloqueio em todos os poços da placa; homogeneização por mais 30 segundos e leitura das densidades ópticas em 450-630 nm imediatamente após a homogeneização em leitora de microplacas da Marca Thermoplate TP-reader. Os resultados foram expressos em ng/mL.

Para a determinação da concentração plasmática de AGNE, utilizou-se kit comercial colorimétrico (RANDOX®) com protocolo adaptado e validado pelo laboratório de Metabolismo e Endocrinologia do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, com a realização da leitura em leitora de microplacas da marca Thermoplate TP-reader, o que permitiu o desdobramento do kit em 20 vezes o número de determinações. As análises foram todas realizadas em triplicata da seguinte forma: pipetagem de 5 μL das amostras em microplacas de 96 poços, com auxílio de pipeta de precisão; pipetagem de 50 μL da solução reagente um, homogeneizando-se em seguida e incubando-se a 37° C por 10 minutos; pipetagem de 100 μL da solução reagente dois (reagente de cor), procedendo-se, a seguir, nova incubação, nas mesmas condições anteriores. Leitura imediata das placas em leitora de microplacas. Para isso, realizou-se calibração prévia do aparelho, utilizando-se amostra padrão e branco. Em cada microplaca, foram pipetados padrões de controle de qualidade, com concentrações alta e baixa de AGNE. Os resultados foram expressos em mmol/mL.

Com relação às dosagens das concentrações plasmáticas de insulina, utilizou-se kit comercial de radioimunoensaio (Porcine insulin Millipore®). As análises foram realizadas em monoplicata da seguinte forma: pipetagem de 300 μL de tampão do ensaio; pipetagem de 100 μL de padrões e controles de qualidade; pipetagem de 100 μL das amostras; pipetagem de 100 μL de insulina radioativa (125I-Insulin) em cada tubo; pipetagem de 100 μL de anticorpo de insulina suína em cada tubo, exceto nos tubos de contagem total e de ligação não específica; agitação dos tubos no vórtex e incubação durante a noite (20-24 horas) a 4°C; adição de 1mL do reagente precipitante em todos os tubos; agitação no vórtex e incubação por 20 minutos à 4 °C; centrifugação a 2.350 g e a 4°C por 20 minutos; inversão dos tubos para desprezar o sobrenadante; e leitura em contador gamma. Os resultados foram expressos em $\mu\text{U/mL}$.

3.7. Manejo reprodutivo

Todas as vacas, após o parto, permaneceram com touros de fertilidade comprovada, na proporção aproximada de um touro para 65 vacas. A observação da manifestação do estro foi realizada duas vezes ao dia, durante o transito dos animais da pista de alimentação para a ordenha.

Foi calculado o intervalo do parto até o dia da concepção (período de serviço).

3.8. Análise estatística

O experimento foi realizado utilizando o delineamento em blocos casualizados. A homocedasticidade e a normalidade dos dados foram testadas pelos testes de Bartlett e Lilliefors, respectivamente, sendo os valores de AGNE e CCS transformados por função logarítmica. Os perfis metabólico e hormonal, a produção, a composição do leite, os pesos e o ECC foram analisados por análise de variância e ajustes de modelos de regressão, para os dias de avaliação. O período de serviço foi analisado por análise de variância. Para testar as diferenças entre as médias, o teste estatístico utilizado foi o Scott Knott a 5%. Para avaliar o escore da condição corporal foi realizada análise de variância não paramétrica utilizando o teste de Friedman. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos do sistema para análises estatísticas – SAEG 9.1 (Universidade Federal de Viçosa-UFV, 1998).

O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij} \text{ em que:}$$

Y_{ij} = observação do tempo i no bloco j ;

μ = efeito médio geral;

t_i = efeito do tempo, i sendo -10, 63 dias de avaliação;

b_j = efeito do bloco j , sendo $j = 1 \dots 17$ animais;

e_{ij} = erro aleatório da observação do tempo i no bloco j .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Produção de leite, sólidos do leite e contagem de células somáticas

Na figura 3 e tabela 4 estão apresentados os dados de produção e composição do leite ao longo dos dias experimentais. A produção de leite, média diária durante todo o período experimental foi de $18,7 \pm 3,6$ litros e o pico de produção ocorreu no dia 24 da lactação ou 4ª semana da lactação com produção máxima de $20,4 \pm 3,7$ litros/vaca/dia.

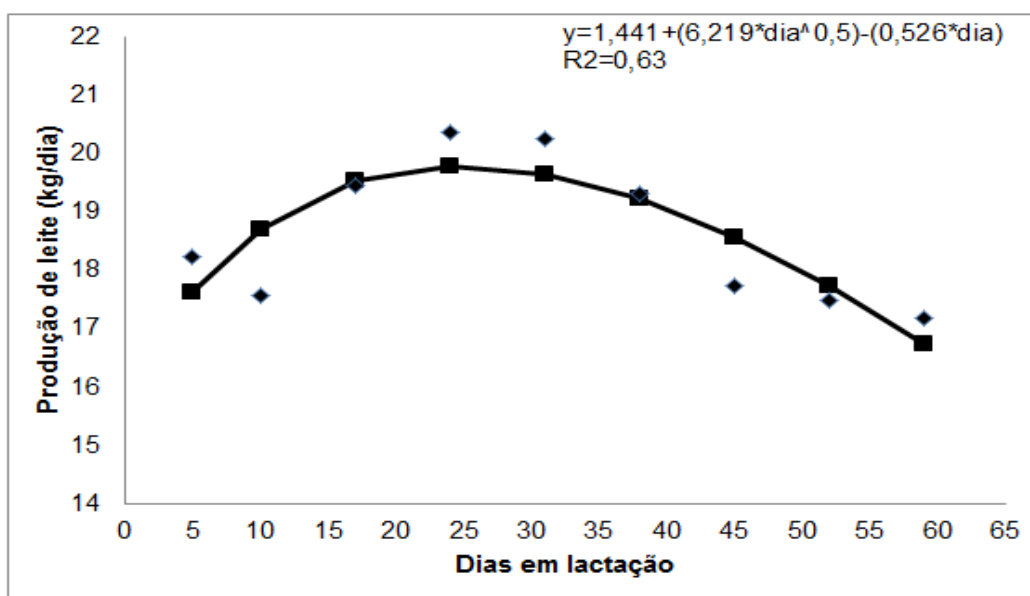


Figura 3. Produção de leite por vacas F1 Holandês-zebu em função dos dias em lactação

A produção no pico da lactação foi superior aos valores relatados por Ruas et al. (2008) que observaram produção de $16,7 \pm 2,8$ litros de leite aos $26,1 \pm 11,9$ dias pós-parto, ou seja, também na 4ª semana pós-parto de vacas F1 Holandês x Zebu de terceira lactação. Glória (2008) relatou em vacas F1 Holandês x Zebu, da primeira a quarta ordens de parto, curva de lactação ascendente com pico de produção aos 23 dias pós-parto, também na 4ª semana pós-parto. Já Carvalho (2009), também utilizando vacas F1 Holandês x Zebu, de 3ª a 8ª ordem de parto, da fazenda experimental da Epamig, localizada em Felixlândia-MG, observou pico de produção de leite de $20,8 \pm 4,0$ na estação seca do ano, semelhante ao presente trabalho. No entanto, o intervalo do parto até o pico de produção foi de $43,8 \pm 30,9$ dias. Butler et al. (1981) observaram pico de produção de leite entre a 4ª e 7ª semana da lactação em vacas da raça Holandês.

Tabela 4. Médias de produção de leite, gordura, proteína, lactose, sólidos totais, energia no leite e contagem de células somáticas (CCS) durante o período pós-parto de vacas F1 Holandês x Zebu

| Variáveis (produção/vaca/dia) | Semanas pós-parto | | | | | | | | | Valor de P |
|-------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------|
| | 1 ^a | 2 ^a | 3 ^a | 4 ^a | 5 ^a | 6 ^a | 7 ^a | 8 ^a | 9 ^a | |
| Produção de leite (kg) | 18,3 ^b | 17,6 ^b | 19,5 ^a | 20,4 ^a | 20,3 ^a | 19,3 ^a | 17,7 ^b | 17,5 ^b | 17,2 ^b | 0,05 |
| Energia no leite (MJ) | 14,20 ^b | 13,91 ^b | 15,30 ^a | 15,98 ^a | 15,88 ^a | 15,21 ^a | 13,95 ^b | 13,81 ^b | 13,74 ^b | 0,05 |
| Gordura (%) | 4,09 ^a | 4,54 ^b | 4,47 ^b | 3,99 ^a | 3,79 ^a | 3,91 ^a | 4,08 ^a | 4,06 ^a | 3,88 ^a | 0,05 |
| Proteína (%) | 3,67 ^a | 3,40 ^b | 3,21 ^c | 3,07 ^c | 3,00 ^c | 3,03 ^c | 3,04 ^c | 3,06 ^c | 3,20 ^c | 0,05 |
| Lactose (%) | 4,51 | 4,57 | 4,57 | 4,57 | 4,59 | 4,59 | 4,57 | 4,59 | 4,65 | 0,14 |
| Sólidos totais (%) | 13,36 ^a | 13,45 ^a | 13,25 ^a | 12,63 ^b | 12,33 ^b | 12,53 ^b | 12,74 ^b | 12,72 ^b | 12,68 ^b | 0,05 |
| CCS (x1000) | 413,6 | 577,41 | 408,23 | 261,76 | 186,70 | 297,88 | 234,11 | 676,70 | 263,29 | 0,36 |

Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Coeficiente de variação (CV) para produção de leite 10,90%; CV para energia do leite 10,54%; CV para gordura 14,11%; CV para proteína 6,83%; CV para lactose 2,10%; CV para sólidos totais 5,19%; CV para CCS 15,44%.

Carvalho (2009) observou que a produção de leite e de sólidos totais de vacas F1 Holandês-Zebu foi semelhante durante os primeiros 100 dias de lactação independente da dieta fornecida (suplementação ou não) durante o período pré-parto e da base genética observada.

Junqueira Filho et al. (1992) observaram máxima eficiência em produção de leite ocorrendo nas vacas mestiças a partir da 5ª lactação, o que justifica os maiores valores observados no presente experimento (3ª a 8ª lactação). Além disso, a estação do ano ao parto interfere na produção de leite de animais F1 Holandês x Zebu. Foi demonstrado que vacas paridas nos meses de junho, julho e agosto produziram mais leite que as vacas paridas nos outros meses do ano (Junqueira Filho et al. 1992; Freitas et al. 2001).

O reduzido intervalo do parto ao pico da lactação das vacas F1 Holandês x Zebu pode ser explicado, pelo menos em parte, por achados de Capuco et al. (2003) que demonstraram a relação da forma da curva da lactação com as taxas de proliferação e apoptose das células epiteliais da glândula mamária. Demonstraram também que até o pico da lactação ocorre aumento da atividade secretória dessas células nas vacas da raça Holandês. Possivelmente, vacas F1 Holandês x Zebu possuem menor número de células alveolares, o que faz com que a atividade secretória máxima e as taxas de proliferação e apoptose se igualem mais precocemente no período pós-parto adiantando o pico de produção em relação às vacas de alto mérito genético para produção de leite.

Não houve diferença entre os dias analisados para os percentuais de lactose ($P > 0,05$) (Tabela 4 e Figura 4) no leite.

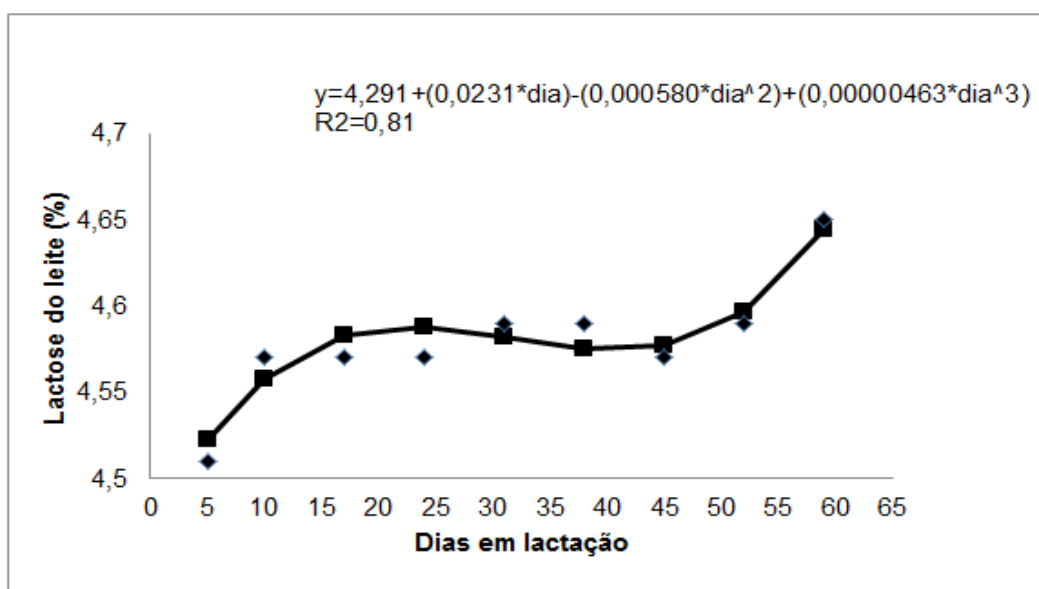


Figura 4. Percentagem de lactose no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação

Dos componentes do leite, a lactose é o que menos sofre variação percentual durante o período lactacional. Assim sua produção varia com o volume de leite produzido. Para a formação da lactose na glândula mamária necessita-se de glicose. Como a taxa de gliconeogênese para transformação de ácidos graxos voláteis e alguns aminoácidos em glicose ocorre de forma relativamente constante e grande parte da glicose produzida é direcionada para a glândula mamária e produção de lactose e conseqüentemente de leite, é de se esperar que a lactose do leite não sofra variação em função do tempo de lactação (Santos, 2011).

Houve diferença entre os dias analisados para percentagem de gordura no leite ($P < 0,05$) (Tabela 4 e Figura 5).

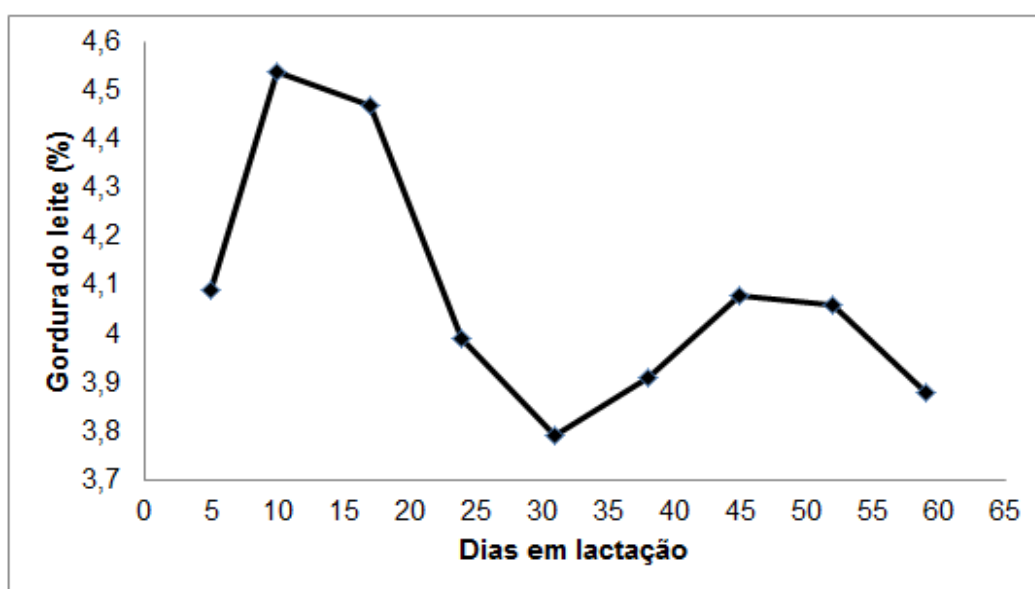


Figura 5. Percentagem de gordura no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação

Não houve ajuste de modelo de regressão para essa variável. Essas variações nos percentuais não possuem relação com infecções da glândula mamária, pois segundo Machado *et al.*, (2000), mudanças nas concentrações dos componentes do leite ocorrem a partir de 1.000.000 de células somáticas/mL de leite para gordura e de 500.000 células somáticas/mL de leite para proteína e lactose, o que não ocorreu neste trabalho como mostra a tabela 4.

A percentagem de gordura do leite foi mais elevada durante a segunda e terceira semanas do período pós-parto, ou seja, antes do pico de produção de leite ocorrido. Santos (2011) encontrou resposta quadrática para o percentual de gordura no leite com teor no início da lactação de 3,89% e máximo estimado de 4,24% aos 88 dias de lactação.

Os percentuais de gordura do leite observados são maiores do que os observados em leite de vacas da raça Holandês. Segundo Madalena (2008), as vacas de origem zebuína, comumente utilizadas para cruzamentos com a raça Holandês para aumento

de heterose, proporcionam aumento nos teores de gordura à medida que se reduz a fração de genes da raça Holandês. Provavelmente, isso ocorre em função da menor produção de leite dos animais zebuínos e seus mestiços. Santos (2011) cita ainda que a grande variabilidade no teor de gordura, em geral, se refere à qualidade e à quantidade de fibra ingerida na alimentação. Assim, a gordura é um componente extremamente sensível às variações que ocorrem na dieta, sendo o teor deste sólido mais elevado no leite de rebanhos mestiços com menor produção, devido ao menor consumo de concentrados e da qualidade da fibra ingerida. Segundo Delahoy et al. (2003), dietas ricas em forragens, que determinam alta produção ruminal de acetato, resultam na produção de leite com maior teor de gordura.

O maior percentual de proteína ocorreu no dia 5 da lactação ou 1ª semana pós-parto com redução na semana seguinte ($P < 0,05$) (Tabela 4 e Figura 6).

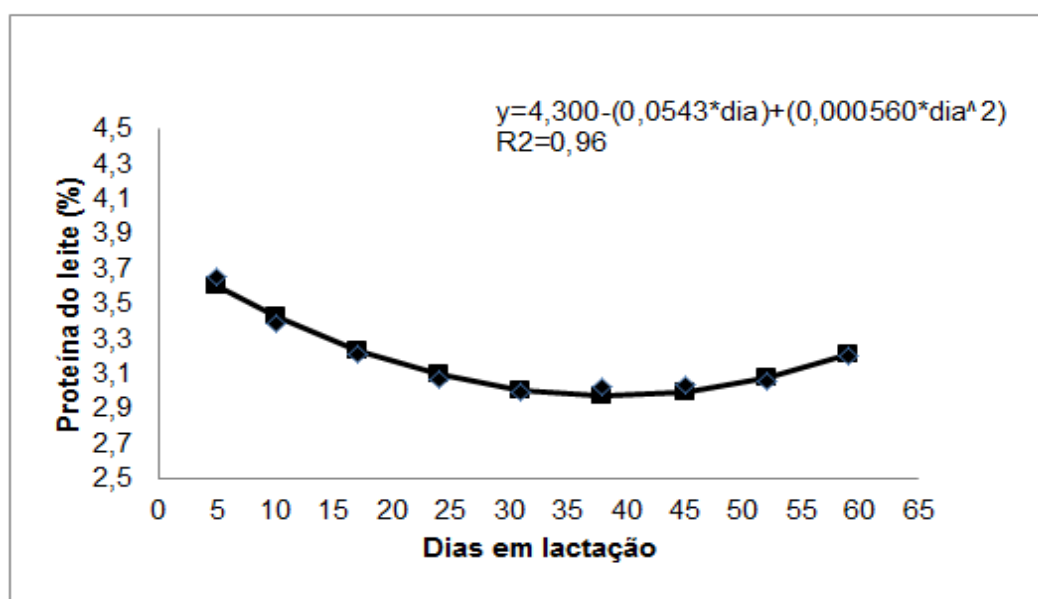


Figura 6. Percentagem de proteína no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação

Para que ocorra alta percentagem de proteína no leite é necessário consumo ideal de carboidratos não fibrosos que resultaria em aumento da taxa de crescimento microbiano ruminal, ou seja, proteína microbiana. Assim chegaria mais aminoácidos disponíveis na glândula mamária para síntese de proteína do leite (NRC, 2001). Dessa forma, os dados mostram que já na primeira semana de lactação, provavelmente, as vacas ingeriram boa quantidade de carboidratos não fibrosos.

A percentagem de sólidos totais manteve-se alta e sem diferença até a 3ª semana pós-parto (Tabela 4). No dia 24 da lactação ou 4ª semana pós-parto, houve queda nessa percentagem permanecendo sem diferença ($P > 0,05$) até a 9ª semana pós-parto (Figura 7).

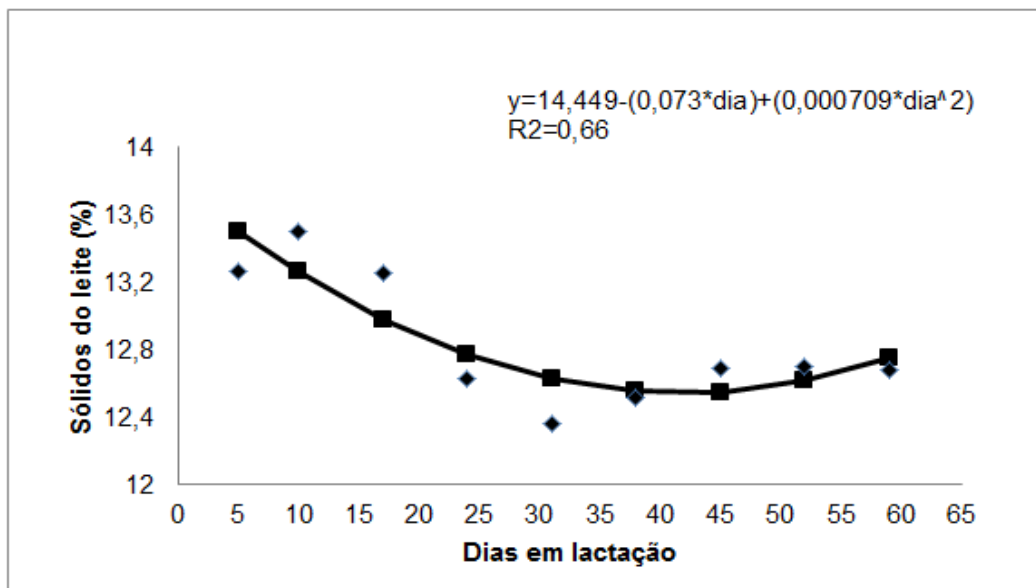


Figura 7. Variação da porcentagem de sólidos totais no leite de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação

Segundo Palmquist et al. (1993), as principais fontes de variação que podem alterar a composição do leite são o estágio de lactação que altera consideravelmente o *status* fisiológico da vaca, e a estação do ano que atua na modificação da origem e tipo de alimentos. Como exemplo dessa última, Santos (2011) observou, assim como o presente trabalho, diferença no teor de gordura do leite em função do tempo do período pós-parto quando as vacas estavam em confinamento alimentando-se de silagem de milho como volumoso. Em outro período experimental, vacas sob pastejo, não houve diferença nos sólidos do leite em função dos dias pós-parto avaliados.

Observou-se correlação negativa ($r = -0,356$, $p < 0,001$) entre produção de leite e proteína e entre produção de leite e sólidos totais ($r = -0,299$; $P < 0,001$), o que demonstra que quanto maior a produção de leite menor a porcentagem de proteína e sólidos totais no leite. A correlação entre produção de leite e gordura do leite também foi negativa, porém muito fraca ($r = -0,207$, $P < 0,05$). A lactose não demonstrou nenhum tipo de correlação com produção de leite, demonstrando que independente da produção de leite a porcentagem de lactose no leite não altera.

A correlação entre proteína e sólidos totais foi alta e positiva ($r = 0,676$; $p < 0,001$). A porcentagem de proteína teve correlação negativa com energia do leite ($r = -0,361$, $P < 0,0001$) e com produção de leite ($r = -0,356$, $P < 0,0001$) corroborando, em parte, com achados de Delahoy et al. (2003) que demonstraram que o efeito de diluição do leite reduz as concentrações dos sólidos no pico da lactação em vacas de raça Holandês. No entanto, esse mesmo efeito não foi observado para gordura e para lactose. No caso da gordura isso pode ter acontecido pela pouca diferença na produção de leite das semanas avaliadas. Não foi observada correlação entre

produção de leite e peso corporal ao parto, corroborando com achados de Berry et al. (2003) estudando vacas de raça Holandês.

A maior demanda energética para produção de leite coincidiu com o período do pico da lactação, ocorrendo entre o 17º e 38º dias de lactação, ou da 3ª a 6ª semanas pós-parto, com valor máximo de $15,98 \pm 2,87$ MJ/vaca/dia na 4ª semana pós-parto (Tabela 4). A partir da 7ª semana do período pós-parto os valores de energia do leite caem se igualando as 1ª e 2ª semanas (Tabela 4 e figura 8).

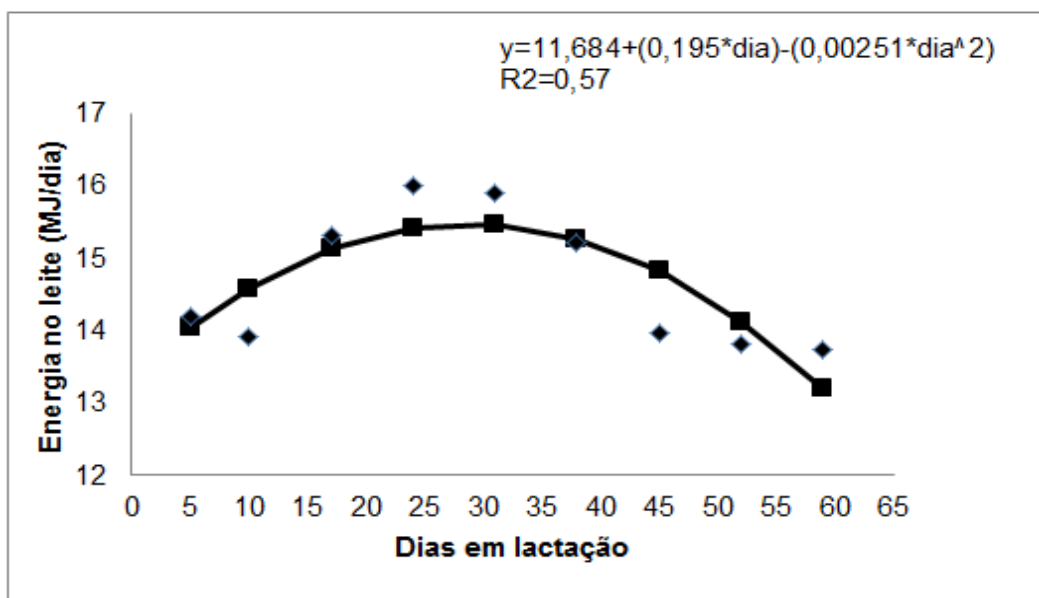


Figura 8. Valor energético do leite produzido de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias da lactação

O maior valor energético do leite observado é justificado pela maior produção de leite mesmo com menor produção de sólidos totais. Ocorreram correlações negativa entre energia no leite e sólidos totais ($r = -0,300$, $p < 0,001$) e positiva entre energia no leite e produção de leite ($r = 0,994$; $p < 0,001$), o que comprovam a afirmação acima.

4.2. Peso e escore da condição corporal

Dez dias antes do parto, o peso corporal médio dos animais foi de $599,4 \pm 65,9$ kg. Entre o dia 10 e o dia cinco antes do parto, os animais ganharam 12,2 kg ou 2,4 kg/dia ($p > 0,05$). Este valor é superior ao relatado por Carvalho (2009) que encontrou ganhos de $1,88 \pm 1,18$ kg/dia durante 36 dias no pré-parto. No entanto, esse mesmo autor demonstrou peso médio no final do período pré-parto muito parecido ($613,43 \pm 58,44$) com o presente trabalho que obteve $611,6 \pm 70,3$ kg no dia 5 antes do parto (Tabela 5).

Essa variação no peso corporal durante o pré-parto justifica-se pela alimentação energética com silagem de milho e concentrado nitromineral (Ferreira, 2004), e ao

confinamento, que diminui o gasto de energia em deslocamento, e ao acelerado crescimento fetal.

Do dia 5 antes do parto até o 2º dia pós-parto ocorreu perda de 72,2 kg de peso corporal ($p > 0,05$). Carvalho (2009) também encontrou perda parecida de 71,5 kg de peso corporal do último dia do período pré-parto para o dia após o parto. Segundo NRC (2001), vacas leiteiras mobilizam energia dos tecidos para suportar as exigências energéticas para produção de leite no início da lactação e repõe esses tecidos a partir do meio até o final da lactação. Porém, essa é uma afirmação baseada em vacas especializadas em produção leiteira como vacas da raça Holandês e informações mais precisas devem ser coletadas para vacas zebuínas e seus cruzamentos.

Essa perda de peso corporal não é resultado apenas de mobilização de tecido corporal, mas também, e principalmente, da eliminação do peso do bezerro, que representa 6 a 8% do peso corporal da mãe antes do parto, dos fluidos placentários (12 a 20 kg) (Grunet & Birgel, 1982) e da placenta com aproximadamente 12 kg.

O menor peso dos animais foi observado no 2º dia pós-parto $539,4 \pm 70$ kg. Após o 2º dia pós-parto, os animais mantiveram o peso até a 9ª semana pós-parto, onde apresentaram peso corporal de 555 ± 72 kg (Tabela 5 e Figura 9).

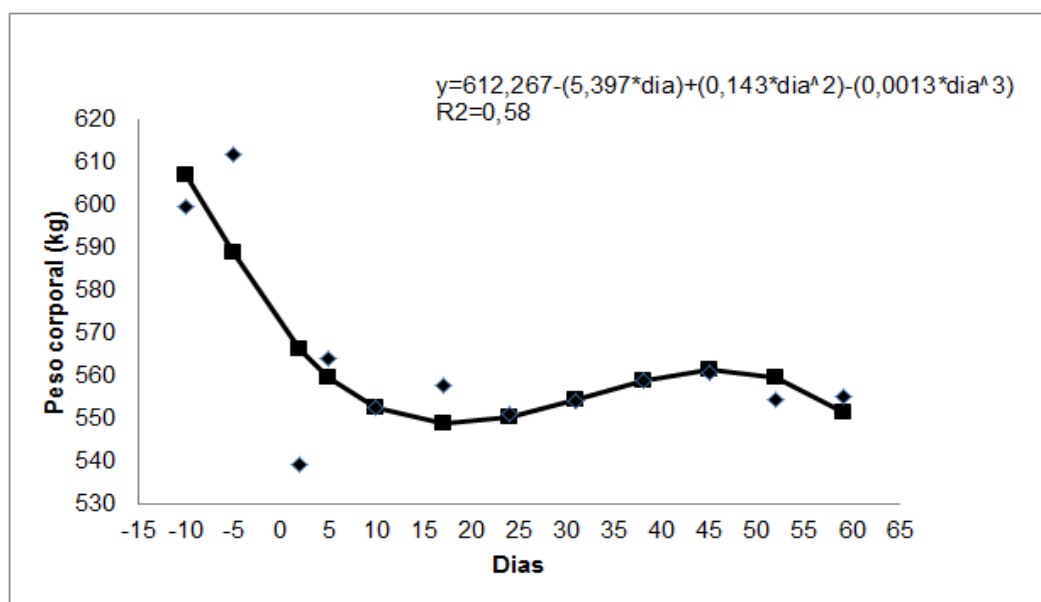


Figura 9. Peso corporal de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias pré e pós-parto. 0 = dia do parto.

Tabela 5. Médias de peso corporal, escore de condição corporal (ECC) e das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE), glicose, insulina e progesterona no pré e pós-parto de vacas F1 Holandês x Zebu

| Variáveis | Dias | | | | | | | | | | | | Valor de P |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------|
| | -10 | -5 | 2 | 5 | 10 | 17 | 24 | 31 | 38 | 45 | 52 | 59 | |
| Peso corporal (kg) | 599,4 ^b | 611,6 ^a | 539,4 ^c | 552,4 ^c | 555,1 ^c | 557,5 ^c | 551,1 ^c | 554,1 ^c | 558,7 ^c | 560,6 ^c | 554,5 ^c | 555,0 ^c | 0,05 |
| ECC | 3,67 | 3,76 | 3,10 | 3,22 | 3,25 | 3,20 | 3,29 | 3,22 | 3,27 | 3,26 | 3,19 | 3,32 | - |
| AGNE (mmol/L) | 0,163 ^b | 0,213 ^b | 0,516 ^a | 0,491 ^a | 0,498 ^a | 0,431 ^a | 0,310 ^b | 0,181 ^b | 0,146 ^b | 0,142 ^b | 0,155 ^b | 0,140 ^b | 0,05 |
| Glicose (mg/dL) | 58,3 ^b | 58,3 ^b | 66,1 ^a | 59,5 ^b | 56,7 ^b | 57,7 ^b | 57,4 ^b | 57,7 ^b | 51,8 ^c | 49,2 ^c | 49,8 ^c | 47,0 ^c | 0,05 |
| Insulina (μU/mL) | 8,5 ^a | 9,2 ^a | 8,1 ^a | 6,6 ^b | 8,6 ^a | 8,5 ^a | 8,5 ^a | 8,3 ^a | 9,0 ^a | 9,0 ^a | 9,1 ^a | 8,2 ^a | 0,05 |
| Progesterona (ng/mL) | 1,9 ^a | 1,6 ^a | 0,6 ^b | 0,5 ^b | 0,6 ^b | 0,6 ^b | 0,7 ^b | 0,6 ^b | 1,0 ^b | 1,6 ^a | 1,4 ^a | 1,5 ^a | 0,05 |

Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Coeficiente de variação (CV) para peso 2,55%; CV para AGNE 84,22%; CV para glicose 20,24%; CV para insulina 33,86%; CV para progesterona 60,65%.

Esse aumento de peso possivelmente ocorreu devido ao aumento do consumo de matéria seca e enchimento ruminal e intestinal e também à reposição de fluidos corporais perdidos durante o parto. Com isso podemos observar que ao contrário do observado para vacas em lactação de raças especializadas, as vacas F1 Holandês x Zebu não apresentam perda de peso significativa no início da lactação, se manejadas adequadamente. Em trabalho de Santos (2011), avaliando o período pós-parto de vacas F1 Holandês x Zebu na mesma fazenda do presente trabalho, identificou ganho de peso das vacas até 95 dias, quando então encontrou peso corporal máximo de 573,9 kg.

Santos (2011) utilizando o mesmo padrão de vacas do presente experimento (F1 Holandês x Zebu) avaliou o consumo de MS em quilogramas (kg) e em porcentagem do peso vivo (% PV) ao longo da lactação. Observou-se aumento da ingestão de MS gradual ao longo do período pós-parto e estimou-se consumos máximos de MS de 18,56 kg aos 54,89 dias e de 3,33 % PV aos 53,26 dias. Esse aumento gradual no nível de consumo de MS até atingir ponto máximo ocorre de forma fisiológica em vacas no terço inicial da lactação.

O NRC (2001) por meio de alguns modelos matemáticos para prever o consumo de MS durante a lactação reporta que o ponto máximo de consumo de MS de vacas da raça Holandês, em clima temperado, ocorre em torno da 14ª semana pós-parto, enquanto que no experimento de Santos (2011), as vacas F1 Holandês x Zebu alcançaram o consumo máximo mais rapidamente, em torno da 7ª semana pós-parto.

De acordo com o NRC (2001), além dos fatores nutricionais, fatores metabólicos também contribuem para aumentos significativos no consumo de MS nesse período. Assim, provavelmente, a menor produção de leite das vacas F1 Holandês x Zebu pode estar influenciando minimamente o status metabólico e conseqüentemente influenciando pouco a depressão da ingestão de MS, fazendo com que as vacas não percam muito peso corporal com o passar das primeiras semanas pós-parto.

Nos últimos anos tem sido estudada a relação do ECC ao parto e o desempenho da lactação e incidência de doenças metabólicas no pós-parto. No início do experimento, dia 10 antes do parto, os animais apresentavam ECC médio de $3,67 \pm 0,61$ pontos. Acompanhando o peso corporal dos animais, do dia 10 antes do parto para o dia 5 antes do parto, o ECC aumentou para $3,76 \pm 0,63$, reduzindo então para $3,10 \pm 0,65$ no 2º dia pós-parto (Tabela 5 e figura 10). No 5º dia pós-parto, os animais já demonstraram recuperação do ECC para $3,22 \pm 0,70$ e, assim como o peso, praticamente mantiveram o ECC até a 9ª semana pós-parto com $3,32 \pm 0,86$.

Observou-se correlação positiva entre peso corporal e ECC ($r = 0,76$; $p < 0,001$), corroborando com achados de Roche et al. (2007).

Berry et al. (2003) encontraram correlação média e positiva variando entre 0,37 e 0,47 no pós-parto entre peso e ECC.

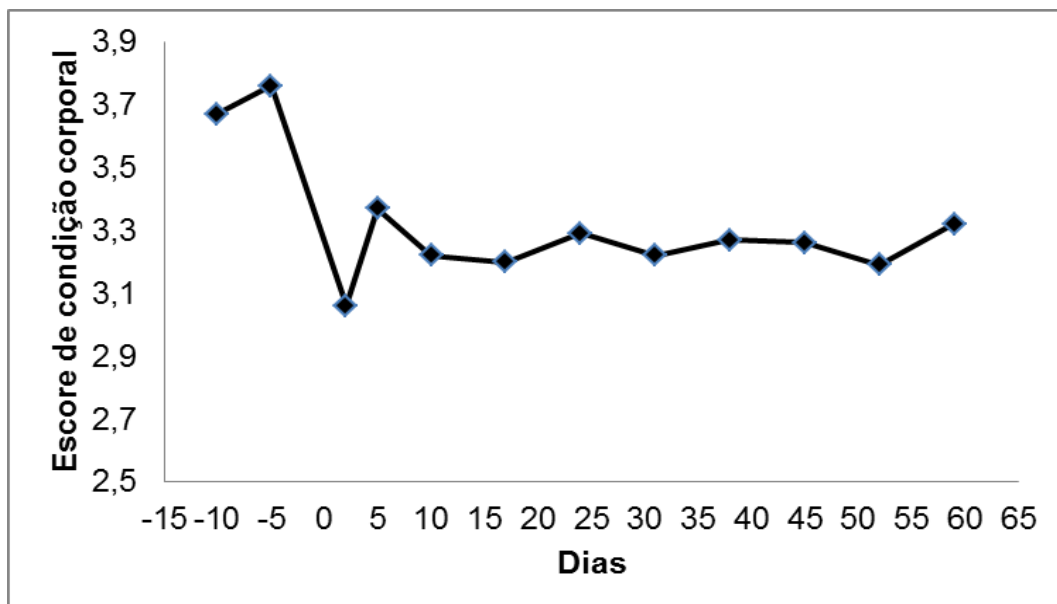


Figura 10. Escore da condição corporal de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias pré e pós-parto. 0 = dia do parto

No final da gestação e crescimento final do feto, há aumento da exigência nutricional, que se apresenta similar ao de uma vaca produzindo de seis a oito kg de leite diários. Além disso, segundo Bell (1995), a redução do consumo de matéria seca pode chegar a 30% nas últimas três semanas de gestação, se agravando ainda mais nos últimos dias anteriores ao parto e no dia do parto, justificando em parte, a possível queda do ECC entre o dia 5 antes do parto e o 2º dia do período pós-parto.

A queda na ingestão de matéria seca no periparto é potencializada pelo maior ECC durante o período seco e o principal precursor gliconeogênico, o propionato, se encontra reduzido nesse quadro. Assim, para suprir as necessidades energéticas do pré e pós-parto, praticamente todos os tecidos do organismo sofrem adaptações metabólicas com o objetivo de aumentar a eficiência na utilização dos metabólitos para manter a gestação e sustentar o início da lactação (Ingvarsen & Andersen, 2000). Dessa forma, o tecido adiposo é mobilizado intensamente, o que resulta em perda de peso e ECC e maior disponibilidade sérica de AGNE (Bell, 1995), o que foi observado no presente trabalho em torno do dia do parto (Tabela 5).

Buckley et al. (2000) tinham demonstrado que vacas da raça Holandês de alto mérito genético para produção de leite (média de 28,2 litros de leite/dia) perderam peso corporal (800 gramas/dia) e ECC (0,14 pontos/dia – escala de 1 a 10) da 1ª a 4ª semana do pós-parto e continuaram perdendo peso corporal (330 gramas/dia) e ECC (0,12 pontos/dia) da 4ª a 8ª semana pós-parto. A partir da 8ª semana pós-parto, as vacas voltaram a ganhar peso corporal (60 gramas/dia) até a 12ª semana. No entanto, o ECC não acompanhou o peso corporal, mantendo-se perda discreta de 0,03 pontos.

4.3. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não-esterificados

Os AGNE são metabólitos produzidos a partir da mobilização de tecido adiposo causado pelo balanço energético negativo. Bauman et al. (1980) relataram que uma das mais importantes adaptações de vacas de alta produção de leite é a habilidade de utilizar as reservas corporais do tecido adiposo na parte inicial da lactação.

No presente trabalho as concentrações de AGNE aumentaram do período pré-parto para o 2º dia após o parto, mantendo-se elevadas até a 3ª semana após o parto ($P < 0,05$) (Tabela 5 e Figura 11).

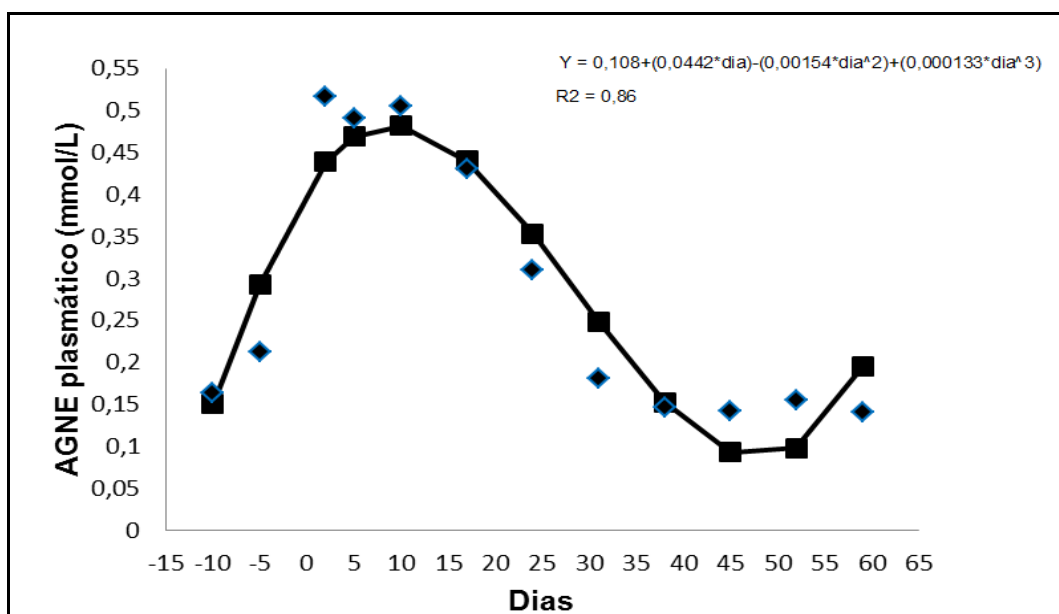


Figura 11. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) em vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias pré e pós-parto. 0 = dia do parto

O comportamento de mobilização de tecido corporal descrito anteriormente foi similar ao relatado por Grummer (1993), que demonstrou durante o período de transição de vacas da raça Holandês, que a mobilização das reservas corporais faz com que as concentrações sanguíneas de AGNE aumentem a medida que se aproxima o parto.

Santos (2011) não identificou efeito do tempo de lactação de vacas F1 Holandês x Zebu sobre as concentrações de AGNE circulantes, obtendo-se média plasmática de 0,284 mmol/L. A autora cita que o menor nível de exigências nutricionais para produção de leite das vacas F1 Holandês x Zebu, quando comparado às vacas especializadas como da raça Holandês, parece limitar a demanda por mobilização de reservas corporais, permitindo dessa forma que a elevação no consumo de MS no início da lactação contribuisse para o ganho de peso ocorrido.

Altas concentrações circulantes de AGNE e sua correlação com mudanças no peso corporal e ECC entre o final da gestação, parto e início da lactação têm sido apontadas

como indicadores de baixo desempenho produtivo e alta incidência de doenças metabólicas em vacas leiteiras especializadas.

Ospina et al. (2010), procurando identificar concentrações críticas de AGNE e Beta-hidroxibutirato para aparecimento de patologias no início da lactação, estabeleceram que as concentrações de AGNE acima de 0,290 mmol/L no pré-parto e de 0,570 mmol/L no pós-parto são indicadores de aumento de incidência de deslocamento de abomaso, cetose clínica, metrite e retenção de placenta.

Os animais desse experimento não apresentaram problemas metabólicos clínicos, mesmo com perda de ECC e concentrações circulantes relativamente altas de AGNE no pós-parto (Tabela 5), porém abaixo do indicado por Ospina et al. (2010).

Ruegg & Milton (1995) utilizaram 429 vacas de 13 rebanhos canadenses de médio mérito genético para produção de leite para determinar a relação de incidência de doenças à outras variáveis e concluíram não haver diferença na perda de condição corporal entre animais que manifestaram doença metabólica e animais saudáveis.

Estudos mais profundos, principalmente sobre metabolismo hepático, devem ser conduzidos para entendermos os mecanismos de metabolização hepática dos AGNE nas vacas leiteiras F1 Holandês x Zebu no período pós-parto.

4.4. Concentrações plasmáticas de glicose

As concentrações de glicose não variaram no período pré-parto, sendo observada concentração média de $58,3 \pm 10,7$ mg/dL. No entanto, no 2º dia do parto a concentração subiu para $66,1 \pm 10,6$ mg/dL, mantendo-se assim até o segundo dia pós-parto. O mesmo foi relatado por Vasquez-Añon et al. (1994), estudando vacas da raça Holandês e por Carvalho (2009) estudando vacas F1 Holandês-Zebu. De acordo com Bell (1995), observa-se aumento de glicose no parto em resposta a alta secreção de cortisol, hormônio estimulador da gliconeogênese, estimulado pelo estresse do parto e isso poderia estar refletindo ainda no 2º dia do pós-parto. Houve redução nas concentrações circulantes de glicose do 2º dia para o 5º dia pós-parto mantendo-se sem variação até a 6ª semana de lactação, onde ocorreu nova redução mantendo-se até a 9ª semana (Tabela 5, Figura 12), observando-se correlação positiva ($r^2 = 0,340$, $p < 0,001$) entre AGNE e glicose.

Essa correlação demonstra que, provavelmente, as vacas demonstraram ter grande capacidade de adaptação ao balanço energético negativo promovendo gliconeogênese com eficiência respondendo a alta secreção de cortisol (Bell, 1995). Carvalho (2009) observou média de $65,7 \pm 22,1$ mg/dL no pós-parto de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu durante os primeiros 35 dias de lactação no período seco do ano quando eram alimentadas com concentrado na hora da ordenha e silagem de milho durante o dia.

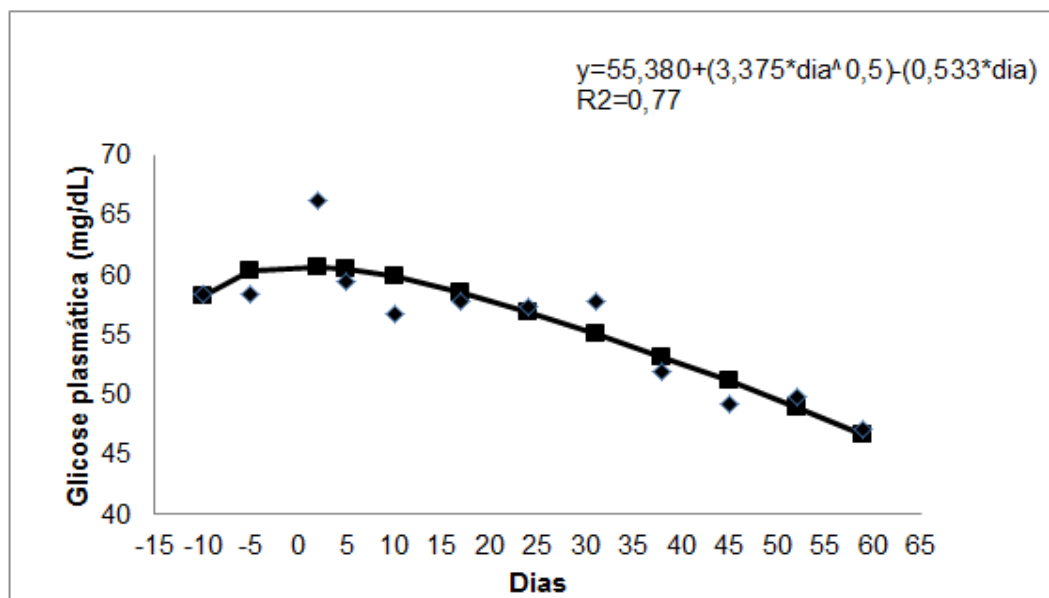


Figura 12. Concentrações de glicose no plasma de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias pré e pós-parto. 0 = dia do parto

4.5. Concentrações plasmáticas de insulina

A insulina manteve-se alta (entre 8,1 e 9,2 $\mu\text{U}/\text{mL}$) durante todo o período experimental, exceto quanto ao 5º dia do período pós-parto quando apresentou média de $6,5 \pm 3,0 \mu\text{U}/\text{mL}$ ($P < 0,05$) (Tabela 5, Figura 13).

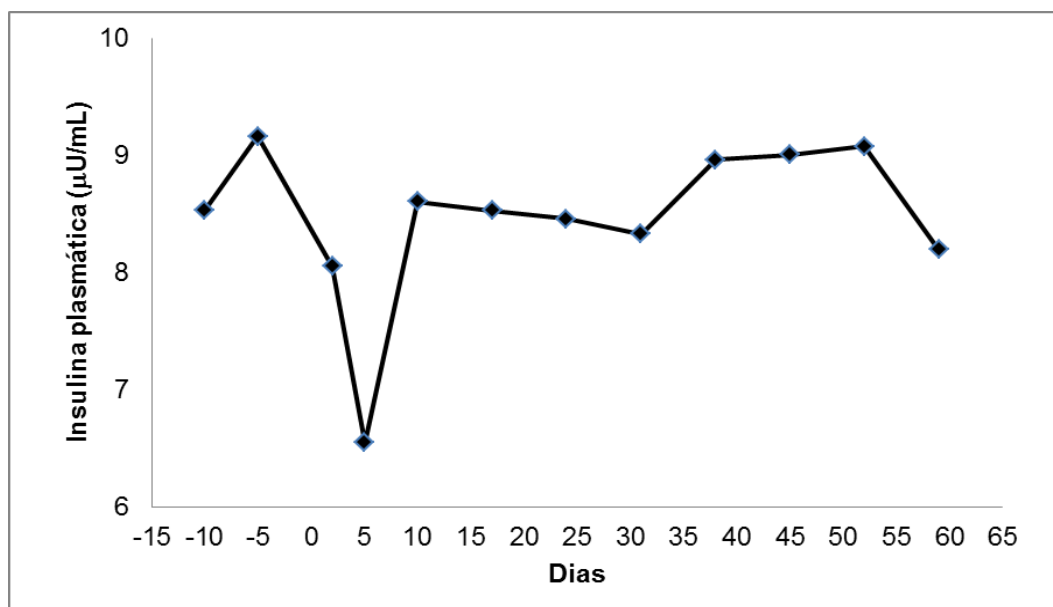


Figura 13. Concentrações de insulina no plasma de vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias pré e pós-parto. 0 = dia do parto

Altas concentrações plasmáticas de AGNE possuem efeitos tóxicos sobre as células pancreáticas, o que leva à redução da secreção de insulina por essas células (Cnop et al., 2001). Isso pode ser uma explicação para essa queda na concentração circulante de

insulina, pois no 2º dia pós-parto as concentrações de AGNE estavam altas ($p < 0,05$) em relação aos dias anteriores.

Houve correlação negativa ($r^2 = -0,330$, $p < 0,001$) entre concentração plasmática de insulina e AGNE, corroborando com achados de Beam & Butler (1997) que encontraram a mesma correlação.

Houve correlação negativa ($r^2 = -0,312$, $P < 0,001$) entre energia no leite e insulina. Isso demonstra que, provavelmente, quanto maior a demanda energética para produção de leite, maior será a perda no peso corporal e ECC, maior será a concentração de AGNE plasmático e menor será a concentração de insulina circulante. Dessa forma, poderíamos dizer que a 1ª semana da lactação, em que as vacas F1 Holandês x Zebu mostraram ter maiores concentrações de AGNE e baixas concentrações de insulina, pelo menos no 5º dia de lactação, é o momento em que ocorre o ponto de mais intenso balanço energético negativo.

Bell (1995) observou reduzidas concentrações plasmáticas de insulina no início da lactação, além de resistência celular periférica a insulina, demonstrada por sua baixa responsividade no tecido adiposo, o que prioriza a captação de glicose pela glândula mamária.

No presente trabalho não foi observado redução da circulação de insulina no pós-parto, com exceção do dia 5. Também não foi observado nenhum momento de resistência celular à insulina, já que os animais começaram a “ganhar peso corporal” na primeira semana do período pós-parto.

Era de se esperar que ocorresse correlação positiva entre insulina e glicose, como relatado por Beam e Butler (1997) ($r^2 = 0,410$, $p < 0,001$). No entanto, isso não foi observado no presente trabalho. A alimentação pode ser um fator que mude essa correlação. Os animais do trabalho supra-citado foram alimentados com altos teores de concentrados, o que aumenta as concentrações de glicose sanguínea e, conseqüentemente, de insulina. Nesse trabalho, as vacas foram alimentadas com baixos teores de concentrados e, assim, mantendo-se concentrações plasmáticas de glicose e insulina sem muita variação.

Carvalho (2009) observou que vacas F1 Guzerá x Holandês apresentaram altas concentrações de glicose ($80,4 \pm 46,1$ mg/dL) ($P < 0,05$) quando foram suplementadas com concentrados na hora da ordenha e silagem de milho *ad libitum* durante o dia na estação seca do ano, porém sem aumentar as concentrações de insulina ($6,41 \pm 0,91$ μ U/mL). Já vacas F1 Gir x Holandês suplementadas com concentrado na hora da ordenha e pastejando, na época chuvosa, apresentaram menores concentrações de glicose ($64,2 \pm 12,3$ mg/dL), porém com maiores concentrações de insulina ($7,71 \pm 4,8$ μ U/mL).

Lucy (2008) encontrou valores médios de insulina de $3,1 \pm 0,1 \mu\text{U/mL}$ para vacas de raça Holandês com alto (originadas da América do Norte) e médio (originadas da Nova Zelândia) mérito genético para produção leiteira, não encontrando variações entre linhagens genéticas e entre várias dietas. Adicionalmente, as concentrações de insulina no pós-parto aumentaram ($p < 0,01$) de $2,8 \pm 0,3 \mu\text{U/mL}$ na primeira semana para $3,9 \pm 0,3 \mu\text{U/mL}$ na 15ª semana do período pós-parto, o que não ocorreu com os animais do presente trabalho, mantendo-se os valores sempre altos e constantes até a 9ª semana pós-parto. Isso pode explicar, pelo menos em parte, o motivo pelo qual as vacas F1 não perderam mais peso após o parto e mantiveram o ECC durante as primeiras 9 semanas do período pós-parto (Tabela 5). Segundo Lewis et al. (2002), a insulina é um potente inibidor da lipase e promove a lipogênese.

4.6. Concentrações plasmáticas de progesterona, primeira ovulação pós-parto e período de serviço

As concentrações de progesterona (P4) decresceram do dia -10 ao 2º dia pós-parto, sendo $1,8 \pm 0,9 \text{ ng/mL}$, $1,6 \pm 0,9 \text{ ng/mL}$ e $0,6 \pm 0,4 \text{ ng/mL}$, respectivamente (Tabela 5, Figura 14).

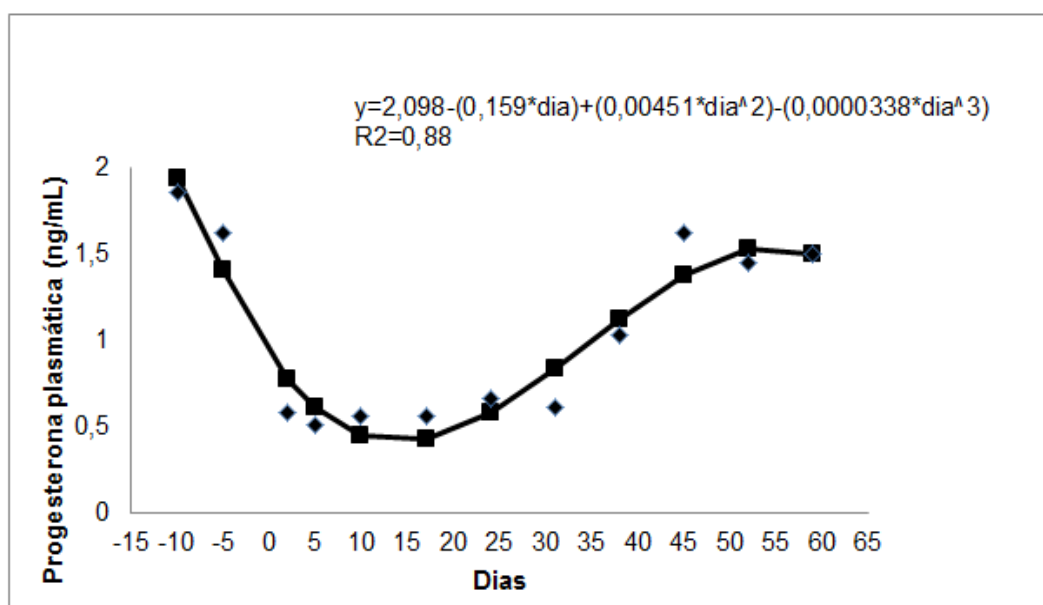


Figura 14. Concentrações plasmáticas de progesterona em vacas F1 Holandês-Zebu em função dos dias pré e pós-parto. 0 = dia do parto

Essa queda na concentração de P4 circulante se deveu provavelmente à lise do corpo lúteo próximo ao parto e a redução da produção e secreção de P4 pela placenta. No pós-parto, a progesterona manteve-se constante e baixa até a sexta semana pós-parto, em que apresentou concentração de $1,03 \pm 0,77 \text{ ng/mL}$, indicando, provavelmente, primeira ovulação e formação de corpo lúteo funcional. O período de serviço médio encontrado foi de $111,3 \pm 73,8$.

Segundo Mucciolo e Barberio (1983), vacas da raça Nelore que apresentavam progesterona plasmática acima de 1 ng/dL possuíam corpo lúteo ativo funcional no ovário. Ruas et al. (2000) também consideraram a concentração de 1 ng/mL como indicativo para vacas Zebu lactantes estarem ciclando.

Contudo, a ocorrência da primeira ovulação não garante o retorno à atividade ovariana luteal cíclica, com a vaca podendo entrar em condição anovulatória (Roche, 2006).

Carvalho (2009) avaliou diariamente durante o pós-parto a dinâmica ovariana de vacas F1 Holandês x Zebu e demonstrou que o intervalo do parto à 1ª ovulação foi de $44,5 \pm 17,6$ e $51,5 \pm 23,3$ dias nas estações seca e chuvosa do ano, respectivamente, valores próximos aos observados no presente trabalho. O período de serviço encontrado foi de $90,5 \pm 59,7$ e $102,5 \pm 65,6$ para a estação seca e chuvosa, respectivamente.

Lara (1985) observou em um rebanho de vacas mestiças Holandês x Zebu que o intervalo desde o parto até a primeira ovulação e o período de serviço foram de $27,3 \pm 10,9$ dias e $98,1 \pm 43,4$ dias, respectivamente. Diferente do trabalho de Butler et al. (1981) que observaram, em vacas da raça Holandês, atividade ovariana com ovulação aos 36 ± 6 dias após o parto, sendo esse momento dez dias após o ponto mais baixo do BEN, as vacas mestiças deste trabalho apresentaram aumento das concentrações de P4 circulantes 36 dias após o balanço energético negativo ter atingido seu ponto máximo (2º dia pós-parto). Provavelmente, esse atraso da atividade ovariana não está associado ao balanço energético negativo como é o caso das vacas da raça Holandês estudadas por Butler et al. (1981).

Os resultados desses trabalhos mostraram que, apesar das vacas possuírem a 1ª ovulação relativamente cedo no pós-parto, tem-se muitas ovulações sucessivas sem sucesso de concepção. Provavelmente, a qualidade dos folículos e, conseqüentemente, do oócito e/ou do corpo lúteo formado parecem estar prejudicados no pós-parto de vacas mestiças, assim como ocorre em vacas de alto mérito genético para produção de leite descrito por Leroy et al. (2006).

Segundo Williams (1990), a amamentação atrasa o início da atividade ovariana pós-parto de maneira independente ou interagindo com outros fatores. A sucção do leite e a presença do bezerro criam mensagens metabólicas, neurais e fisiológicas que alteram a ciclicidade ovariana. Dentre essas alterações, destacam-se o aumento da sensibilidade do hipotálamo ao *feedback* negativo do estrógeno e aumento dos estímulos dos opióides que suprimem a secreção de GnRH e conseqüentemente de LH (Griffith & Williams, 1996).

Ruas et al. (2006), trabalhando com vacas mestiças Holandês x zebu primíparas e pluríparas de “graus de sangue” variados, na Fazenda Experimental da Epamig de Patos de Minas-MG, observaram que a ausência do bezerro na sala de ordenha não

influenciou no retorno mais rápido à atividade ovariana luteal cíclica ($p > 0,05$), e não influenciou ($p > 0,05$) o período de serviço (média de 123,4 dias).

No presente trabalho ocorreu correlação negativa ($r^2 = -0,710$, $p < 0,001$) entre intervalo do parto à 1ª ovulação pós-parto e ECC. Essa correlação não existiu para ECC e período de serviço. Isso indica que vacas F1 Holandês x Zebu que apresentam baixo ECC demoram mais a ciclar após o parto, mas não atrasam em emprenhar em relação às vacas de ECC melhor. Vacas da raça Holandês com baixo ECC ou que falham em aumentar a condição corporal durante a lactação possuem baixa concentração plasmática de IGF-I e insulina durante o período reprodutivo e demonstram atraso da primeira ovulação pós-parto (Gong et al. 2002; Chagas et al., 2007). Ocorreu correlação negativa entre insulina e AGNE ($r^2 = -0,334$, $p < 0,001$) e também entre insulina e intervalo do parto à 1ª ovulação ($r^2 = -0,387$, $p < 0,001$) no presente trabalho, corroborando com os trabalhos supra-citados.

Ainda com relação a P4, as vacas nesse experimento mantiveram concentrações plasmáticas intermediárias (0,1 a 1,0 ng/mL) até a ovulação. Concentrações plasmáticas intermediárias de P4 antes da primeira ovulação pós-parto podem agir diretamente no hipotálamo e impedir a secreção de GnRH e então impedir o pico de LH. Isso culmina em falha na ovulação e formação de cistos ovarianos (Hatler et al., 2003).

Rodrigues et al. (2011) observaram que vacas que apresentaram alta concentração plasmática de AGNE também apresentaram maiores concentrações de P4 ($> 0,1$ ng/mL). Teoricamente, a ovulação e formação de corpo lúteo devem ocorrer quando há concentrações plasmáticas basais de P4 ($< 0,1$ ng/mL) e vacas que mantêm concentrações intermediárias de P4 possuem riscos aumentados de desenvolverem cisto folicular. No entanto, as vacas F1 Holandês x Zebu desse trabalho não desenvolveram cisto folicular e, aparentemente, nem falha ovulatória apresentando concentrações intermediárias de P4.

5. CONCLUSÕES

O pico da lactação das vacas F1 Holandês x Zebu ocorreu rapidamente após o parto, na 4ª semana da lactação.

O 2º dia após o parto foi o momento de maior *deficit* energético e de balanço energético negativo mais profundo.

Após o parto, as vacas F1 Holandês x Zebu recuperam rapidamente o peso e o escore da condição corporal.

O momento considerado como a 1ª ovulação pós-parto ocorreu após 36 dias do ponto de mais intenso balanço energético negativo que foi o 2º dia após o parto.

As vacas desse experimento apresentaram intervalos relativamente grandes entre o parto e a 1ª ovulação e entre esta e a concepção.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUMAN, D. E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci*, v.63, p.1514-1529, 1980.

BEAM S.W.; BUTLER W.R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl*, v.54, p.411-424, 1999.

BEAM, S. W.; BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod*, v.56, p.133-142, 1997.

BELL, W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci*, v.73, p.2804-2819, 1995.

BERRY, D. P.; BUCKLEY, S.; DILLON, P. Genetic relationships among body condition score body weight, milk yield, and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, v.86, p.2193-2204, 2003.

BILODEAU-GOESEELS, S. Effect of culture media and energy source on the inhibition of nuclear maturation in bovine oocytes. *Theriogenology*, v.66, p.297-306, 2006.

BUCKLEY, F.; DILLON, P.; RATH, M. et al. The relationship between genetic merit for yield and live weight, condition score, and energy balance of spring calving Holstein Friesian dairy cows on grass based systems of milk production. *J Dairy Sci*, v.83, p.1878-1886, 2000.

BUCKLEY, F.; O'SULLIVAN, K.; MEE, J. F. et al. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved holstein-friesians. *J Dairy Sci*, v.86, p.2308-2319, 2003.

BUTLER, S. T.; MARR, A. L.; PELTON, S. H. et al. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J Endocrinol*, v.176, p.205-217, 2003.

BUTLER, W. R. Produção de leite, balanço energético negativo e fertilidade em vacas leiteiras. In: XII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2008, Uberlândia. *Anais...* Uberlândia: Conapec Jr., 2008. p.26-36.

BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci*, v.72, p.767-783, 1989.

BUTLER, W.R.; EVERETT, R.W.; COPPOCK, C.E. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci*, v.53, p.742-748, 1981.

CAPUCO, A. V.; ELLIS, S. E.; HALE, S. A. et al. Lactation persistency: Insights from mammary cell proliferation studies. *J Anim Sci*, v.81, p.18-31, 2003.

CARVALHO, B. C. *Parâmetros reprodutivos, metabólicos e produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu submetidas a dois manejos pré-parto, Minas Gerais*. 2009. 193 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CHAGAS, L. M.; BASS, J. J.; BLACHE, D. et al. *Invited review*: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci*, v.90, p.4022-4032, 2007.

CHAGAS, L. M.; LUCY, M. C.; BACK, P. J. et al. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. *J Dairy Sci*, v.92, p.216-222, 2009.

CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev*, v.38, p.131-152, 1998.

- CNOP, M.; HANNAERT, J. C.; HOORENS, A. et al. Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation. *Diabetes*, v.50, p.1771-1777, 2001.
- DELAHOY, J. E.; MULLER, L. D.; BARGO, F. et al. Supplemental carbohydrate sources for lactating Dairy cows on pasture. *J Dairy Sci*, v.86, p.906, 2003.
- DRACKLEY, J. K.; DONKIN, S. S.; REYNOLDS, C. K. Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *J Dairy Sci*, v.89, p.1324-1336, 2006.
- EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, v.72, p.68-78, 1989.
- ETHERTON T. D. Somatotropic function: The somatomedin hypothesis revisited. *J Anim Sci*, v.82, p.E239-E244, 2004.
- ETHERTON, T. D.; BAUMAN, D. E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol Rev*, v.78, p. 745-761, 1998.
- FERREIRA, A. M.; SÁ, W. R.; VILLAÇA, H. A. et al. Diagnóstico da situação produtiva e reprodutiva em rebanhos leiteiros da Zona da Mata. *Pesq Agropec Bras*, v.27, p.91-104, 1992.
- FERREIRA, J. J. Alimentação de bovinos mestiços leiteiros. *Informe Agropecuário*, v.25, p.64-72, 2004.
- FIGUEIREDO, M. M. N.; FONSECA, F. A.; ALVES, C. A. et al. Dinâmica folicular ovariana de vacas leiteiras no pós-parto após tratamentos com busarelina (GnRH) e cloprostenol (PGF₂). *R Bras Zootec*, v.29, p.725-731, 2000.
- FONSECA, L. F. L.; RODRIGUES, P. H. M.; LIMA, A. P. et al. Suplementação de propilenoglicol para vacas no período peri-parto: efeitos sobre incidência de cetose, produção leiteira, escore corporal e primeiro estro pós-parto. *Acta Sci Anim Sci*, v.25, p.177-183, 2003.
- FORMIGONI, A.; CORNIL, M.; PRANDI, A.; et al. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. *J Dairy Res*, v.63, p.11-24, 1996.
- FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, v.50, p. 225-232, 1994.
- FREITAS, M. S.; DURÃES, M. C.; FREITAS, A. F. et al. Comparação da produção de gordura e da duração da lactação entre cinco “graus de sangue” originados de cruzamentos entre Holandês e Gir em Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.53, p.708-713, 2001.

GARCIA-ISPIERTO, I.; LOPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P. et al. Factors affecting the fertility of high producing dairy herds in northeastern Spain. *Theriogenology*, v.67, p.632-638, 2007.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M. et al. Selection of dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.55, p.1187-1194, 1996.

GLORIA, J. R. *Fatores genéticos e ambientais que influenciam as características das curvas de lactação de quatro grupos genéticos de mestiças Holandês-Zebu, Minas Gerais*. 2008. 73 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GONG, J. G.; LEE, W. J.; GARNSWORTHY, P. C. et al. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction*, v.123, p.419-427, 2002.

GONG, J.G.; WEBB, R. Control of ovarian follicle development in domestic ruminants: its manipulation to increase ovulation rate and improve reproductive performance. *Anim Breed Abst*, v.64, p.195-204, 1996.

GRIFFITH, M. K.; WILLIAMS, G. L. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biol reprod*, v.54, p.761-768, 1996.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*, v.76, p.3882-3896, 1993.

GRUMMER, R. R.; CARROLL D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J Anim Sci*, v.69, p.3838-3852, 1991.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H. *Obstetrícia veterinária*. Porto alegre: Sulina, 1982. 323p.

GUTIERREZ, C. G.; GONG, J. G.; BRAMLEY ,T. A. et al. Selection on predicted breeding value for milk production delays ovulation independently of changes in follicular development, milk production and body weight. *Anim Reprod Sci*, v.95, p. 193-205, 2006.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. *Reprodução animal*. 7ed. Barueri: Manole, 2004. 513p.

HAMUDIKUWANDA, H.; GALLO, G.; BLOCK, E. et al. Adipose tissue progesterone concentrations in dairy cows during late pregnancy and early lactation. *Anim Reprod Sci*, v.43, p.15-23, 1996.

HATLER, T. B.; HAYES, S. H.; LARANJA, L. F. et al. Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cow with ovarian follicular cysts. *Biol reprod*, v.69, p.218-223, 2003.

HOEBEN, D.; HEYNEMAN, R.; BURVENICH, C. Elevated levels of IS-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils. *Vet Immunol Immunop*, v.58, p.165-170, 1997.

HORAN, B.; DILLON, P.; FAVERDIN P. et al. The interaction of strain of holstein-friesian cows and pasture-based feed systems on milk yield, body weight, and body condition score. *J Dairy Sci*, v.88, p.1231-1243, 2005.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci*, v.83, p.1573-1597, 2000.

JORRITSMA, R.; WENSING, T.; KRUIP, T. A. M. et al. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet Res*, v.34, p.11-26, 2003.

JUNQUEIRA FILHO, G. N.; VERNEQUE, R.S.; LEMOS, A. M. Fatores fisiológicos e de meio sobre a produção de leite por vacas mestiças leiteiras no CNPGL/Embrapa. *Pesq Agropec Bras*, v.27, p.153-162, 1992.

LARA, J. L. R. *Alguns aspectos reprodutivos de um rebanho leiteiro no período pós-parto, Minas Gerais*. 1985. 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LE ROITH, D.; BONDY, C.; YAKAR S. et al. The Somatomedin Hypothesis. *Endocr Rev*, v.22, p.53-74, 2001.

LEROY, J. L. M. R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A. et al. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part I. *Reprod Domest Anim*, v.43, p.612-622, 2008a.

LEROY, J. L. M. R.; VAN SOOM, A.; OPSOMER, G. et al., Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part II. *Reprod Domest Anim*, v.43, p.623-632, 2008b.

LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; OPSOMER, G. et al. The In vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and β -hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reprod Domest Anim*, v.41, p.119-123, 2006.

LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; VAN KNEGSE, A. T. M. et al. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: Mismatch between metabolism and fertility? *Reprod Domest Anim*, v.43, p.96-103, 2008c.

LEWIS, G.F.; CARPENTIER, A.; ADELI, K. et al. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev*, v.23, p.201-229, 2002.

LÓPEZ-GATIUS, F.; YÁÑIZ, J.; MADRILES-HELM, D. Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a meta-analysis. *Theriogenology*, v.59, p.801-812, 2003.

LUCY, M. C. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: Implications for post-partum nutrition and reproduction. *Reprod Dom. Anim*, v. 43, p.31-39, 2008.

LUCY, M. C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci*, v.83, p.1635-1647, 2000.

LUCY, M. C.; JIANG H.; KOBAYASHI, Y. Changes in the somatotropic axis associated with the initiation of lactation. *J Dairy Sci*, v.84, p.E113-E119, 2001.

LUCY, M. C.; VERKERK, G. A.; WHYTE, B. E. et al. Somatotropic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. *J Dairy Sci*, v.92, p.526-539, 2009.

MACDONALD, K. A.; VERKERK, G. A.; THORROLD, B. S. et al. A comparison of three strains of holstein-friesian grazed on pasture and managed under different feed allowances. *J Dairy Sci*, v.91, p.1693-1707, 2008.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Rev Bras Zootec*, Viçosa, v. 29, p. 1883-1886, 2000.

MADALENA, F. E. Reposição com novilhas F1: um esquema simples de cruzamento. *Informe Agropecuário*, v.16, p.22-27, 1992.

MADALENA, F. E. 2008. Estratégias de uso de recursos genéticos visando melhorar a qualidade do leite e derivados. In: SBMA, VII simpósio brasileiro de produção animal, São Carlos.

MUCCILOLO, R. G.; BARBERIO, J. C. Níveis de progesterona no plasma sanguíneo durante o ciclo estral e a gestação de vacas nelore (*Bos indicus*). *R Bras Reprod Anim*, v.7, p.11-21, 1983.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7ed. Washinton, D.C. 2001. 381p.

NETT, T. M. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *J Reprod Fertil Suppl*, v.34, p. 201-213, 1987.

NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7 th rev. ed. Natl. Acad. Press. Washington.

OLIVEIRA, H. T. V.; REIS, R. B.; GLÓRIA, J. R. et al. Curvas de lactação de vacas F1 Holandês-Gir ajustadas pela função gama incompleta. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.59, p.233-238, 2007.

OPSOMER, G.; CORYN, M.; DELUYKER, H. et al. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod Dom Anim*, v.33, p.193-204, 1998.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J Dairy Sci*, v.93, p.546-554, 2010.

PALMQUIST, D. L., BEAULIEU A. D.; BARBANO, D. M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J Dairy Sci*, V.76, p.1753-1771, 1993.

PIRES, J. A. A.; SOUZA, A. H.; GRUMMER, R. R. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in holstein cows. *J Dairy Sci*, v.90, p.2735-2744, 2007.

PRYCE, J. E.; NIELSEN, B. L.; VEERKAMP R. F. et al. Genotype and feeding system effects and interactions for health and fertility traits in dairy cattle. *Livest Prod Sci*, v.57, p.193-201, 1999.

RADCLIFF, R. P.; McCORMACK, B. L.; CROOKER, B. A. et al. Growth Hormone (GH) binding and expression of GH receptor 1A mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*, v.86, p.3933-3940, 2003.

RENAVILLE, R.; HAMMADI, M.; PORTELLE, D. Role of somatotropic axis in the mammalian metabolism. *Domest Anim Endocrin*, v.23, p.351-360, 2002.

RHOADS, R. P.; KIM, J. W.; LEURY, B. J. Insulin increases the abundance of the growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. *J Nutr*, v.134, p.1020-1027, 2004.

RIVERA, G. M.; FORTUNE, J. E. Proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins -4 and -5 in Bovine follicular fluid: Implications for ovarian follicular selection and dominance. *Endocrinology*, v.144, p.2977-2987, 2003.

ROBERTS, A. J.; NUGENT, R. A.; KLINDT, J. et al. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J Anim Sci*, v.75, p.1909-1917, 1997.

ROCHE, J. F. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, v.96, p.282-296, 2006.

ROCHE, J. R.; BERRY, D. P.; KOLVER, E. S. Holstein-Friesian strain and feed effects on milk production, body weight, and body condition score profiles in grazing dairy cows. *J Dairy Sci*, v.89, p.3532-3543, 2006.

ROCHE, J. R.; MACDONALD, K. A.; BURKE, C. R., et al. Associations among body condition score, body weight and reproductive performance in seasonal-calving dairy cattle. *J Dairy Sci*, v.90, p.376-391, 2007.

RODRIGUES, R. O.; TREVISANUTO, C.; COOKE, R. F. et al. Effects of body weight loss on serum progesterone concentrations of non-lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.75, p.137-137, 2011.

RUAS, J. R. M.; BRANDÃO, F. Z.; BORGES, L. E. et al. Influencia da presença do bezerro no momento da ordenha sobre o desempenho reprodutivo de vacas mestiças Holandês-Zebu. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.58, p.530-536, 2006.

RUAS, J. R. M.; CARVALHO B. C.; SILVA FILHO, J. M. et al. Efeito da base genética materna e da estação de parição sobre características produtivas de fêmeas primíparas F1 Holandês x Zebu. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.59, p.218-224, 2007.

RUAS, J. R. M.; CIRO, A. A. T.; BORGES, L. E. et al. Concentrações plasmáticas de colesterol, glicose e uréia em vacas zebuínas, em relação à condição corporal e ao *status* reprodutivo. *Rev bras zootec*, v.29, p.2036-2042, 2000.

RUAS, J. R. M.; SILVA, M. A.; CARVALHO, B. C. et al. A importância da raça gir na formação do rebanho leiteiro nacional. *Informe Agropecuário*, v.29, p.53-61, 2008.

RUEEG, P. L.; MILTON, R. L. Body condition scores of Holsteins cows on prince Edward Island, Canada: Relationships with yield, reproductive performance, and disease. *J. Dairy Sci*, v.78, p.552-564, 1995.

SANTOS, S. A. Curvas de lactação e consumo de vacas F1 Holandês x Zebu em pastejo e em confinamento. 2011. 192 f. Dissertação (doutorado em zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

SISTEMAS de análises estatísticas – SAEG. Versão 9.1. Viçosa: UFV, 1998.

SNIJDERS, S. E. M.; DILLON, P.; O'CALLAGHAN, D. et al. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology*, v.53, p.981-989, 2000.

SUTTON M.L.; GILCHRIST, R.B.; THOMPSON J.G. Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. *Hum Reprod Update*, v.9, p. 35-48, 2003.

VASQUEZ-ANON, M.; BERTICS S. J.; LUCK M. L. et al. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci*, v.77, p.1521-1528, 1994.

VEERKAMP, R. F.; SIMM, G.; OLDHAM, J. D. Effects of interaction between genotype and feeding system on milk production, feed intake, efficiency and body tissue mobilization in dairy cows. *Livest Prod Sci*, v.39, p.229-241, 1994

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P. C; GONG, J. G. et al. Control of follicular growth: Local interaction and nutritional influences. *J Anim Sci*, v.82, p.E63-E74, 2004.

WILLIAMS, G. L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *J Anim Sci*, v.68, p.831-852, 1990.