

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

Efeito da suplementação com monensina no pré e pós-parto nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro do maior folículo e na sua capacidade ovulatória a um estímulo com GnRH de vacas Nelore

DANIEL FEIJÓ BILUCA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, como parte das exigências para a obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA.

Botucatu – São Paulo
2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

Efeito da suplementação com monensina no pré e pós-parto nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro do maior folículo e na sua capacidade ovulatória a um estímulo com GnRH de vacas Nelore

DANIEL FEIJÓ BILUCA
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, como parte das exigências para a obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA.

Botucatu – São Paulo
2005

DEDICO

Aos meus pais que foram os grandes incentivadores desse trabalho e à minha esposa que sempre esteve ao meu lado com amor e dedicação.

OFEREÇO

A todos que alguma forma contribuíram para que este trabalho se tornasse uma realidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor José Luiz Moraes Vasconcelos pela oportunidade, orientação, amizade, apoio e dedicação na realização deste trabalho.

Aos Professores Mario de Beni Arrigoni, Francisco Stefano Wechesler, Antonio Carlos Silveira e Gilberto Rocha pela amizade, incentivo e contribuição fundamental para este trabalho.

À Minerthal que pelo grande apoio e incentivo.

À Elanco pelo apoio e orientações e à fazenda Rio Pardo pelo local e animais.

Ao laboratório de Fisiologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal, Laboratório de Dosagens Hormonais da FMVZ – USP – São Paulo e Laboratório de análises bromatológicas do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ – UNESP - Botucatu pelas análises laboratoriais.

À Márcia minha companheira de mestrado e grande colaboradora.

À Gabriela e Ricarda pelo apoio disponibilidade e amizade.

À toda equipe do Professor Zequinha que auxiliou para a realização deste trabalho.

Ao meu amigo Giampaolo pela amizade e companheirismo em todos os momentos.

Aos colegas Sergio Morgulis e José Roberto Peres pela contribuição técnica.

Aos grandes amigos que ganhei nessa fase e que ficarão comigo para sempre: Vanessa, Tito, Biela, Splinter, Anderson, Miriane, Rafael, Patrícia, Adriana e Thalita.

Às funcionárias Seila, Carmen e Solange pela amizade paciência e colaboração.

À minha família, José Eduardo, Sônia, Adriana e Fábio pelo incentivo, apoio, carinho, necessários e valiosos nesse e em todos momentos da vida.

À minha querida esposa Alessandra que se fez presente em todos os momentos, através do apoio, dedicação, paciência, compreensão e amor.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
1. Introdução	2
2. Balanço Energético	3
3. Ácidos Graxos Não Esterificados (AGNE)	4
4. IGF-1 no organismo	5
5. Anestro	7
6. Relação entre parâmetros metabólicos e hormônios da reprodução	8
7. Monensina	10
8. Referências Bibliográficas	13
 CAPÍTULO 2 - Efeito da suplementação com monensina no pré e pós-parto nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro do maior folículo e na sua capacidade ovulatória a um estímulo com GnRH de vacas Nelore	 24
Resumo	25
Abstract	26
Introdução	27
Material e Métodos	29
Resultados e Discussão	33
Conclusões	38
Referências Bibliográficas	39
Tabelas e Gráficos	47
 CAPÍTULO 3 – IMPLICAÇÕES	 55

Lista de Abreviaturas

AGNE = Ácidos graxos não-esterificados

AGV = Ácidos graxos voláteis

BEN = Balanço energético negativo

CL = Corpo lúteo

CNCPS = Cornell Net Carbohydrate and Protein System

ECC = escore de condição corporal

FD = Folículo dominante

FSH = Hormônio folículo-estimulante

GH = Hormônio de crescimento

GnRH = Hormônio liberador de gonadotrofinas

IGF-I = Fator de crescimento semelhante à insulina I

IGFBP = proteína ligante do IGF

IMS = Ingestão de matéria seca

IRMA = Imunorradiométrico

LH = Hormônio luteinizante

mRNA = Ácido ribonucléico mensageiro

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

Como objetivo para uma pecuária competitiva e rentável, temos que buscar o maior desfrute possível do rebanho. Para tanto a atividade de cria se torna ponto de partida para atingir os melhores resultados de produtividade pelo maior número de quilos de bezerros desmamados por hectare por ano, que está relacionada com eficiência reprodutiva e qualidade de bezerros que podem ser obtidos através de tecnologias com inseminação artificial ou inseminação artificial em tempo fixo.

No Brasil Central a concentração de partos ocorre de agosto a dezembro, sendo que, bezerros nascidos nesse período apresentam maior peso a desmama que os nascidos no restante do ano (BOCCHI, 2003). Para que isso ocorra as vacas estarão no período periparto em uma época de baixa disponibilidade de alimentos, quantitativa e qualitativamente.

Nessa situação, a vaca consome suas reservas de energia, perdendo peso e entrando em balanço energético negativo (BEN). Segundo O'Calagan & Boland (1999) o "status" nutricional é o maior fator controlador da fertilidade em bovinos. Sendo ele negativo, vai interferir aumentando o intervalo parto-primeira ovulação, parto-concepção e diminuindo a porcentagem de bezerros produzidos, diminuindo a eficiência econômica do sistema de produção.

Para atingir o equilíbrio dessa equação aparentemente antagônica, se torna de relevante importância o desenvolvimento de técnicas que permitam diminuir o período de BEN e conseqüentemente aumentar a eficiência reprodutiva na melhor época para nascimento dos bezerros mais pesados.

Uma característica metabólica do BEN é a mobilização de reserva corporal, refletindo no aumento da concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (DE VRIES et al., 1999), sendo esta uma sinalizadora da severidade do BEN.

A duração do anestro pós-parto é influenciada pela presença do bezerro, balanço energético, e número de partos, além de outros fatores como estação do ano, raça, presença do touro, parto gemelar, distocia e retenção de placenta (YAVAS & WALTON, 2000a). Os efeitos do "status" energético na reprodução estão associados ao LH. A intensidade e duração do BEN, possivelmente através do IGF-1, diminui a pulsatilidade de LH, o desenvolvimento folicular e também a capacidade de resposta do ovário a seu estímulo (BUTLER, 2000).

A eficiência na conversão alimentar e fatores que a envolvem têm grande importância no BEN. Os ionóforos têm melhorado essa eficiência, promovendo alteração da fermentação ruminal, pelo aumento do propionato, diminuição da metanogênese, da desaminação e dos níveis de ácido láctico. O aumento do propionato também eleva as concentrações plasmáticas de glicose e insulina, aumentando a retenção tecidual de energia (REYNOLDS et al., 1991). Como o BEN tem ligação direta com o fluxo de nutrientes para o organismo, a monensina pode influenciá-lo e isso se reflete na eficiência reprodutiva (SPROTT et al., 1988) diminuindo o período de anestro pós-parto (HARDIN E RANDEL, 1983; WEBB et al., 2001).

A utilização da monensina ainda é pequena em dietas a pasto principalmente para fêmeas. Apesar disso, pode ser uma tecnologia que melhora a eficiência reprodutiva do rebanho reduzindo o intervalo entre o parto e o primeiro cio. Isso devido à melhora no status energético que tem interferência direta no BEN. Além disso, a suplementação com monensina também pode ser associada a protocolos de sincronização e/ou inseminação artificial, associando a melhora na eficiência reprodutiva com bezerros de melhor qualidade. A suplementação com monensina pode ser de grande utilidade para uma pecuária moderna que tem como objetivo atingir o máximo desempenho e patamares sustentáveis de produção e rentabilidade.

2. Balanço Energético

Segundo o NRC (1996) a exigência aproximada de energia metabolizável (EM) para manutenção de uma vaca nelore no último mês de prenhez é 0,32 Mcal/KgPV para manutenção, 0,14 Mcal/KgPV para a prenhez e 1,4g/KgPV de proteína metabolizável (PM). Após 30 dias de parida essa mesma vaca tem exigência aproximada de EM, para manutenção de 0,38 Mcal/KgPV e PM 1,2 g/KgPV e 1,16 Mcal de EM e 59g de PM por quilo de leite produzido.

Portanto, segundo simulações realizadas no programa CNCPS 5.0 uma vaca de 450 Kg, dez dias antes do parto, tem exigência aproximada de PM de 659 g/dia e EM de 21,9 Mcal/dia. Essa mesma vaca logo após o parto, e com produção de leite de 8 litros (ROCCO, 2004) tem exigência aproximada de PM de 835 g/dia e EM de 26,4 Mcal/dia.

Considerando a dieta dessa vaca exclusivamente a pasto, com características de 8,5% de PB e 28% de FB, a mesma simulação citada acima resultou em 1,77 Mcal/KgMS de EM e 91,6 g/KgMS de PM, contidos no alimento.

Segundo Wright & Russel (1984) 1 ponto de ECC em uma escala de 1 a 5 equivale a 70 Kg de PV. Para mudar de ECC 2 para 3 é necessário acumular 360 Mcal e para mudar de ECC 3 para 4 é necessário acumular 480 Mcal.

Tem-se definido então, através da simulação, que a mesma vaca parida descrita acima apresenta BEN de 9,6 Mcal/dia. Portanto, para descer de ECC 4 para 3 serão necessários 50 dias com uma perda de peso de 1,4 Kg/dia. Para descer de ECC 3 para 2 serão necessários 38 dias com uma perda de peso de 1,8 Kg/dia.

Vacas zebuínas mobilizam, em maior extensão que vacas de outras raças, as reservas corporais para beneficiar o bezerro. Esta condição resulta em prolongado BEN, decorrente da mobilização de reservas orgânicas e do esgotamento das fontes energéticas necessárias à função reprodutiva. BUSTAMANTE et al. (1997) observaram prolongado período de inatividade ovariana em vacas com baixa condição corporal e atribuíram isso à utilização das reservas corporais pelas vacas para manter sua produção de leite. No mesmo grupamento genético Rhodes et al. (1995) demonstraram que o diâmetro do folículo dominante (FD) tem correlação negativa com perda de peso, e em gado de leite períodos de balanço energético negativo (BEN) influenciam negativamente o crescimento folicular (BEAM & BUTLER, 1999).

3. Ácidos Graxos Não Esterificados (AGNE)

Vacas sofrendo restrição alimentar e consequentemente em BEN têm como característica, concentrações plasmáticas de glicose e insulina reduzidas e concentrações plasmáticas de AGNE aumentadas (MACKEY et al., 2000 e BOSSIS et al. 1999).

Níveis altos de glicose provocam secreção de insulina pela células β do pâncreas; níveis baixos deprimem essa secreção e aumentam a secreção de glucagon pelas células α do pâncreas e epinefrina pela medula adrenal. Glucagon e epinefrina estimulam a lipase da célula adiposa através do AMP cíclico, provocando a lipólise (STRYER, 1988).

Quando isso acontece, o tecido adiposo é metabolizado e são liberados ácidos graxos não esterificados (AGNE) e glicerol que podem ser usados como fonte de energia durante períodos de BEN (WETTMANN et al., 2003). Durante o período de BEN as concentrações de AGNE na circulação são elevadas (RUKKWAMSUK et al., 2000).

O aumento da produção de propionato reduz a concentração de AGNE (DiCONSTANZO et al., 1999). Concentrações de AGNE em novilhas em anestro

nutricional induzido, são elevadas. Durante a realimentação essas concentrações gradualmente diminuem antes do retorno da ovulação (BOSSIS et al., 2000). Estratégias para aumentar a produção de propionato e a ingestão de nutrientes diminuindo o BEN podem, potencialmente, diminuir a concentração plasmática de AGNE.

Além disso, AGNEs possivelmente inibem a sobrevivência e proliferação das células da granulosa, sendo um possível mecanismo pelo qual o BEN influencia a foliculogênese durante o período pós-parto em vacas de leite de alta produção (VANHOLDER et al., 2004).

4. IGF-1 no organismo

O IGF-1 é um hormônio protéico, dependente de GH, produzido no fígado e em outros tecidos, inclusive no folículo e tem função sistêmica de regulação no metabolismo de carboidratos, gordura e proteína (WETTEMANN et al., 2003). A produção de IGF-1 nos tecidos está diretamente relacionada com a concentração sanguínea de IGF-1 que controla a produção de GH por “feedback negativo” (BASS & CLARK, 1989).

Durante restrição alimentar as concentrações circulantes de GH aumentam (PEARSON & DUTSON, 1991) e as de IGF-1 diminuem (ARMSTRONG et al., 1996). Explicando isso está o BEN que exerce um bloqueio nos receptores GHR-1A, de GH no fígado, que estimulam a produção de IGF-1 (“down regulation” dos receptores de GH). Elsasser et al. (1989) demonstraram que animais em BEN tem declínio de IGF-1, porém têm nível de GH aumentado e não respondem a aplicação exógena de GH. Porém, durante a re-alimentação **ad libitum** os níveis de IGF-1 aumentam. (ELEMBERGUER et al., 1989).

A concentração plasmática de IGF-1 está positivamente associada com ECC e consumo de alimento (YELICH et al. 1996), e baixas concentrações de IGF-1 estão associadas com um período de anestro pós-parto mais estendido em vacas de corte (ROBERTS et al., 1997) e com atraso na puberdade (GRANGER et al. 1989). Quando múltiparas foram submetidas à restrição alimentar a partir dos 30 dias pós-parto, as concentrações circulantes de IGF-1 foram reduzidas em 50% dentro de apenas quatro dias do início da restrição (RUTTHER et al., 1989). Lents et al. (2002) estudando vacas com diferentes ECC demonstraram que as concentrações de insulina e IGF-1 obedeciam correlação linear com o ECC, porém após suplementação igual dessas vacas com 110% da energia de manutenção essa correlação não obedecia o mesmo

padrão, demonstrando que concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1 são influenciadas pela ingestão de alimentos mais que pelo ECC. Além disso, o ECC é um indicador de status energético útil, porém pode ser impreciso e subjetivo (RANDEL, 1990).

As concentrações de IGF-1 circulantes declinam no parto e aumentam gradualmente no decorrer do período pós-parto (VICINI et al., 1991). Roche et al. (2000) citam que, de acordo com a intensidade do BEN no período pós-parto, há diminuição das concentrações de IGF-1 sistêmico e disponibilidade de IGF-1 intrafolicular, diminuição da frequência de pulsos de LH e do diâmetro do folículo dominante determinando um maior intervalo parto-primeira ovulação; além disso, apresentam menor ECC, menores concentrações de insulina e glicose e aumento dos níveis de AGNE.

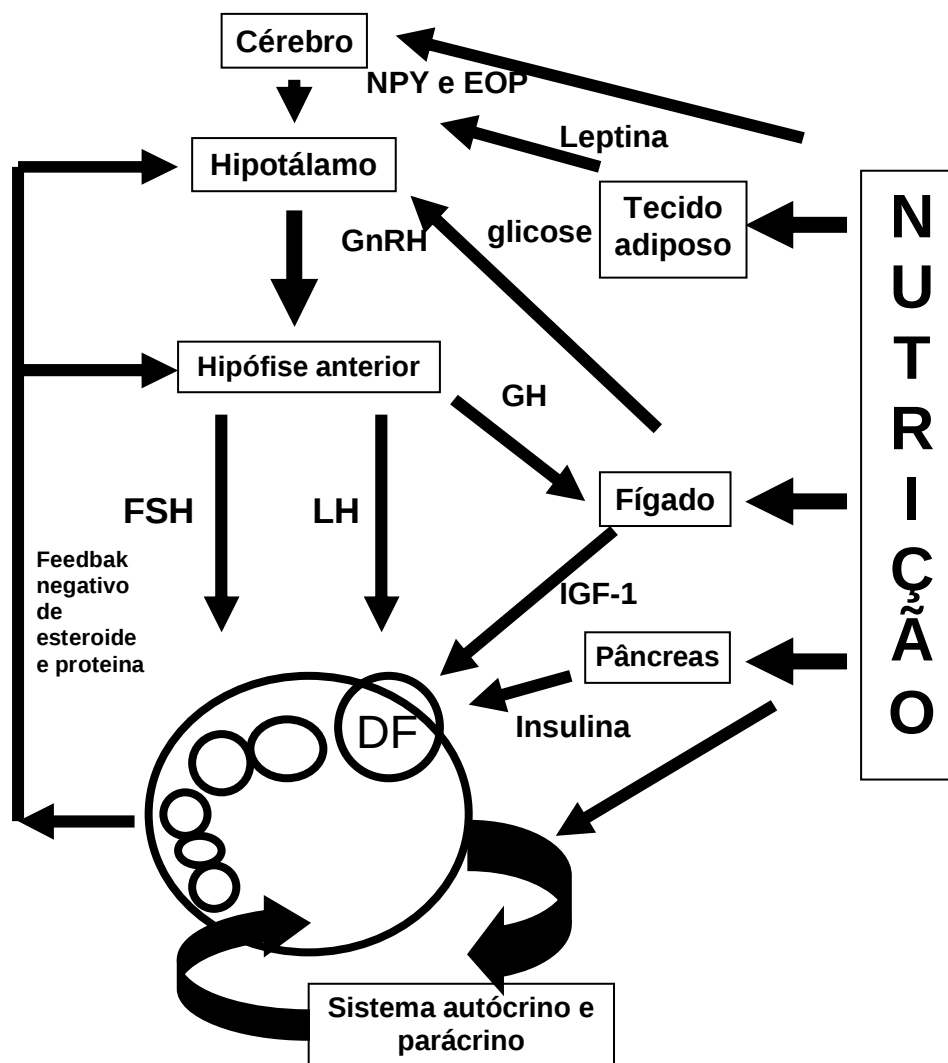


Figura 1: Diagrama representativo dos possíveis mecanismos que a nutrição pode afetar a reprodução. (Diskin et al., 2003)

5. Anestro

O anestro pós-parto é um período de transição durante o qual a funcionalidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano-uterino se recupera da prenhez. As três primeiras semanas pós-parto são necessárias para a involução uterina e reposição dos estoques hipofisários do hormônio luteinizante (LH) (YAVAS & WALTON, 2000b).

A liberação de hormônio folículo estimulante (FSH) e o desenvolvimento de folículos iniciam logo após o parto. Contudo, esses folículos falham em atingir a maturação final, devido à ausência de pulsos apropriados de LH e se tornam-se atresícos. A ausência de adequados pulsos de LH no início do pós-parto deve-se a depleção dos estoques de LH da hipófise anterior, o que independe da amamentação. Após a reposição dos estoques de LH, entre 15 a 30 dias pós-parto, a ausência de pulsos apropriados de LH passa a ser dependente da amamentação e do BEN, já que ambos suprimem a liberação de LH pela inibição de descargas hipotalâmicas de GnRH (YAVAS & WALTON, 2000b).

O período de anestro pós-parto pode prolongar-se nos casos em que as vacas apresentam suas reservas corporais reduzidas, o que, associado à mamada, pode impedir a liberação de GnRH (WILLIAMS, 2002). Isso se confirma nos estudos de Santos et al. (2004), em que vacas Nelore com ECC 2,0, 2,5, 3,0 e 3,5 no período pós-parto apresentaram ciclicidade de 0%, 19,7%, 23,8% e 43,9%, respectivamente.

Diskin et al. (2003) associam que a nutrição pré-parto, refletida na ECC ao parto é determinante para a duração do período de anestro pós-parto, enquanto a ingestão de alimentos, a intensidade e duração do BEN influenciam mais o crescimento e consequentemente o diâmetro do folículo dominante. Confirmando isso Sinclair et al. (2002) demonstraram que vacas parindo com ECC 2,0 e 3,0, numa escala de 1 a 5, tiveram intervalos parto-primeira ovulação de 57 e 48 dias respectivamente. Enquanto isso Ciccioli et al. (2001) estudaram vacas com ECC 4,0 e 5,0 numa escala de 1 a 9, colocadas em dois tratamentos com alta energia e média energia. As do primeiro tratamento tiveram folículos maiores (14,8mm) que as do segundo (13,5mm), sem sofrer qualquer interferência da ECC inicial.

Em vacas em anestro, baixos níveis de estradiol inibem a secreção pulsátil de GnRH pelo hipotálamo e consequentemente de LH, porém não inibem os pulsos de LH durante o ciclo estral (GOODMAN, 1994), ou seja, BEN associado a amamentação podem impedir o crescimento folicular final devido à potencialização do efeito de “feedback” negativo do estradiol no hipotálamo reduzindo os pulsos de GnRH (WILBANK, 1998).

Vacas em BEN apresentam reservas de gonadotrofinas e resposta à aplicação de GnRH exógeno reduzidas (RANDEL, 1990) pela diminuição da persistência do folículo. De acordo com o grau de BEN no período pós-parto há diminuição da frequência de pulsos de LH, do diâmetro do folículo dominante, das concentrações de IGF-1 plasmático e da disponibilidade de IGF-1 intra-folicular, determinando o intervalo parto-primeira ovulação (ROCHE et al., 2000).

A ingestão de nutrientes menor que as exigências da vaca que caracterizam o BEN, também induz mudanças na ação de hormônios metabólicos diretamente no ovário trazendo mudanças no padrão de crescimento folicular (GUTIERREZ et al., 1997). Animais em BEN têm atraso na manifestação do primeiro estro pós-parto (DE VRIES et al., 2000), causado principalmente pela combinação de atraso na primeira ovulação e pouca expressão de comportamento de estro (STAPLES et al., 1990). Um curto período em BEN e boa condição corporal estão associados ao retorno à ciclicidade após o parto (STEVENSON et al., 1997).

Outro aspecto bastante destacado na literatura que interfere na duração do período de anestro pós-parto é a interferência da presença do bezerro. Isso vem potencializar ainda mais os aspectos citados acima.

Stagg et al. (1998) demonstraram que o efeito da sucção em vacas de corte é importante fator que afeta a duração do anestro pós-parto. O comportamento maternal é mais importante que o ato da sucção em si para regular a frequência de pulsos de LH. A percepção inguinal do bezerro pela vaca durante a sucção, aumenta a sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo ao efeito de “feedback” negativo do baixo estradiol ovariano, pela liberação de peptídeos de opióides endógenos pelo hipotálamo (STEVENSON et al., 1994). Esse conjunto de fatores resulta na supressão da liberação de pulsos de LH, falha na ovulação e anestro pós-parto prolongado (YAVAS & WALTON, 2000b).

6. Relação entre parâmetros metabólicos do “status” energético e hormônios da reprodução

Existem muitas evidências que os hormônios metabólicos como insulina, IGF-1 e leptina têm importante papel como mediadores dos efeitos do fluxo de nutrientes e do balanço energético na fertilidade de vacas através da interferência no desenvolvimento folicular (DISKIN et al., 2003).

O hipotálamo, diferentemente de outras áreas do cérebro, tem um transportador de glicose dependente de insulina, que faz com que sofra interferência

da concentração de glicose no sangue (LIVINGSTONE et al., 1995). Há evidências significativas que restrição alimentar e BEN reduzem a concentração de insulina circulante (MACKEY et al., 2000 e SINCLAIR et al., 2002) e seu papel é ser sinalizador metabólico influenciando a liberação de LH pela hipófise anterior (MONGET & MARTIN, 1997).

Em ovelhas que foram levadas à hipoglicemia e tratadas com insulina, o início do pico de LH foi atrasado, porém o mesmo tratamento associado com infusão de glicose preveniu a hipoglicemia e restabeleceu o tempo normal para o pico de LH induzido pelo estradiol (MEDINA et al., 1998).

Existem receptores para insulina no cérebro, na hipófise (LESNIAK et al., 1988) e no tecido ovariano (PORETSKY & KALIN, 1987). Insulina estimula a liberação de GnRH no hipotálamo *in vitro* quando existe glicose disponível (ARIAS et al., 1992) e infusão de insulina dentro dos ventrículos cerebrais de ovelhas em restrição alimentar aumenta a secreção de LH (DANIEL et al., 2000). A insulina também estimula a produção de estradiol pelas células ovarianas de vacas (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995) e ainda pode influenciar a taxa de ovulação (HARISON & RANDEL, 1986). Vacas tratadas com aplicações de insulina tiveram desenvolvimento folicular e produção de estradiol maiores pelo FD que vacas não tratadas (SIMPSON et al., 1994).

Efeitos nutricionais no retorno da ciclicidade em vacas pós-parto, supressão do ciclo estral pela restrição alimentar e seu recomeço após uma realimentação podem ser mediados via IGF-1 (DISKIN et al., 2003). Em primíparas, o aumento na ingestão de nutrientes no pós-parto resultou no aumento da concentração plasmática de IGF-1 e no aumento do diâmetro folicular (CICCIOLI et al., 2001), além da sua influência nas células da hipófise, onde Adam et al. (2000) demonstraram que quando foram tratadas *in vitro* com IGF-1 aumentaram a produção de LH.

Em folículos pré-antrais, Wandji et al. (1992) demonstraram que há uma quantidade de sítios de ligação, porém a maioria não específicos. Após a formação do antro, o número de sítios de ligação para gonadotrofinas e IGF-1 aumenta. Parte da ação do IGF-1 no desenvolvimento folicular envolve estímulo da proliferação das células da granulosa, da teca e aumento da esteroidogênese (SPICER et al., 1995 e STEWART et al., 1995).

Também as células da granulosa dos folículos maiores mostraram aumento do número de receptores para IGF-1 comparados com folículos menores (SPICER et al., 1995). Foi demonstrado que a ação sinérgica do IGF-1 na esteroidogênese induzida por LH em células da teca de bovinos são mediadas, em parte, pela indução do IGF-1 aumentando o número de receptores de LH (STEWART et al., 1995).

Segundo Guinther et al. (2001), um folículo dominante, em comparação com os subordinados, é caracterizado pela sua capacidade de produzir estradiol, por apresentar um aumento da concentração de IGF-1 intrafolicular e por um aumento substancial no tamanho.

A biodisponibilidade do IGF-1 circulante e seu “clearance” são controlados pelas proteínas ligantes do IGF ou IGFBP (THISSEN et al., 1994). A insulina diminui a IGFBP-2 que bloqueia a ação do IGF-1, porém não afeta a IGFBP-3 necessária para aumentar a vida útil da molécula de IGF-1 (McGUIRE et al., 1995).

Armstrong et al. (2003) demonstraram que dietas com alta energia e promovem alta concentração de insulina e inibem a concentração intra-folicular de IGFBP-2, o que aumenta a concentração de IGF-1 atuante. Confirmando esse resultado Austin et al. (2001) observaram que a IGFBP-2 tem maior concentração em folículos atrésicos e menor em folículos maiores e/ou dominantes. A quantidade de IGFBP-2 e o aumento dos receptores de LH nas células da granulosa aparentemente estão associados com o estabelecimento do folículo dominante (WEBB et al., 2004).

Nicholas et al. (2002), relataram que existem pelo menos 51 formas de IGFBPs presentes no fluido folicular podendo ser a chave para mediação da divergência e desenvolvimento do folículo, porém as funções fisiológicas dessas enzimas ainda são desconhecidas.

7. Monensina

A monensina é um ionóforo, sua molécula é poliéster carboxílico que se comporta como um antibiótico. Ela se liga a íons metálicos e os carrega através da membrana celular (PRESSMAN, 1976). Vários estudos demonstram que a monensina pode também alterar a eficiência reprodutiva de vacas (SPROTT et al, 1988) e diminuir o intervalo anestro pós-parto (WEBB et al., 2001).

A monensina melhora a utilização do nitrogênio (MUNTFERING et al., 1980) melhorando a eficiência alimentar pois altera a produção de ácidos graxos voláteis no rúmen em favor do propionato (RICHARDSON et al., 1976) produzido no rúmen, diminui as perdas pela produção de metano (CH_4), as reações de deaminação e a produção de ácido láctico (BERGEN & BATES, 1984). Além disso, promove um efeito tamponante no rúmen mantendo um ambiente favorável ao crescimento bacteriano. Em dietas a pasto, o ganho na eficiência ruminal e consequentemente a maior fluxo de nutrientes para o organismo está ligado à diminuição da produção de metano. O decréscimo da produção de metano causado pela monensina pode ser explicado pela

mudança nos AGVs e no decréscimo na reação acetato:propionato (LANA & RUSSELL, 2001).

A monensina se movimenta através da membrana celular e carrega, através de seu grupamento carboxílico, cátions para dentro da célula. Essa entrada afeta o equilíbrio iônico e de pH interno (BAGG, 1997). Para manter esse equilíbrio bactérias gram-positiva ativam um sistema de transporte ativo de íons, expulsando cátions, normalmente K^+ para fora da célula. Esse transporte gasta energia o que, através da ação constante da monensina, diminui a capacidade de crescimento e reprodução dessas bactérias. As bactérias gram-negativas são resistentes à monensina devido sua capacidade de realizar esse tipo de transporte de cátions para fora da célula sem gasto de energia (BERGEN & BATES, 1984).

Moseley et al. (1977) verificaram que a suplementação com monensina alterou as concentrações plasmáticas de glicose, sendo isso responsivo às mudanças na produção de propionato (CRONJÉ et al., 1991). O propionato entra no ciclo do ácido tri-carboxílico (ATC) repondo os estoques de oxaloacetato, principal substrato para a gliconeogênese e geração de energia (BERGEN & BATES, 1984; RICHARDSON et al., 1976). Mais propionato eleva a glicose sanguínea e a concentração de insulina aumentando a retenção de energia pelo organismo (REYNOLDS et al., 1991). Confirmando essas afirmações, Reed & Whisnant (2001) demonstraram que animais tratados com monensina têm concentração de insulina de 7,6 ng/ml enquanto animais não tratados têm 6,5 ng/ml ($p < 0,1$).

Existem poucos estudos relatando os efeitos da monensina na concentração de IGF-1. Em ovelhas estudadas por Peclaris et al. (1999) e tratadas com monensina a concentração de IGF-1 aumentou. Já Strauch et al. (2001) não encontraram benefício da monensina em dietas com alta densidade energética nos níveis de IGF-1, porém relataram aumento da expressão de RNA mensageiro para IGF-1 no fígado.

O fornecimento de monensina também diminui as concentrações plasmáticas das cetonas (SAUER et al., 1989). Schillo (1992) propôs que as concentrações plasmáticas de glicose e cetonas poderiam ser sinais importantes e influentes na performance reprodutiva da pós-parturiente.

Mostrou-se que, em vacas de corte, o período para se observar o primeiro estro foi menor nos animais tratados com monensina quando se comparou com os animais não tratados. (HARDIN & RANDEL, 1983). Quando a suplementação com ionóforo se iniciou 28 dias antes do parto, também houve uma diminuição nesse período (PADILLA-RAMIREZ, 1998).

Relata-se que a suplementação com monensina decresce a idade à puberdade e melhora a resposta superovulatória em novilhas (MOSELEY et al., 1977;

MACCARTOR et al., 1979). Em outro estudo Moseley et al. (1982) observaram diminuição significativa na idade à puberdade, porém não houve alteração de peso corporal.

Monensina tem se mostrado capaz de aumentar a atividade ovariana (BUSHIMICH et al., 1980), elevando as concentrações séricas de LH (RANDEL & RHODES, 1980; RANDEL et al., 1982) e de insulina (REED et al., 1997). Essas afirmações são confirmadas pelos estudos de DiConstanzo et al. (1999) onde animais com maior relação propionato:acetato tiveram concentração de LH maior e maior número de pulsos de LH. Reed & Whisnant (2001) demonstraram que monensina aumentou o tamanho do folículo ovulatório. Apesar de poucas informações na literatura sobre essa possível influência, essas observações sugerem que suplementação com monensina pode influenciar nos aspectos reprodutivos da vaca Nelore. Sua capacidade de alterar a fermentação ruminal e aumentar o fluxo de nutrientes para o organismo altera os sinais metabólicos e hormonais internos e seus desdobramentos. Dentre eles está a reprodução.

Portanto, o estudo apresentado no capítulo 2, intitulado **“Efeito da suplementação com monensina no pré e pós-parto nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro do maior folículo e na sua capacidade ovulatória a um estímulo com GnRH de vacas Nelore”**, escrito conforme normas da revista Animal Reproduction Science – Elsevier Science B.V., teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com monensina, em vacas nelore paridas a pasto, em anestro, nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro de maior folículo e na capacidade de resposta desse folículo a um estímulo ovulatório hormonal (GnRH).

8. Referências Bibliográficas

ADAM, C. L., GADD, T.S., FINDLAY, P.A., WATHES, D.C. IGF-1 stimulation of luteinizing hormone secretion, IGF-binding proteins (IGFBPs) and expression of mRNAs for IGFs, IGF receptors and IGFBPs in the ovine pituitary gland. **Journal of Endocrinology**, v.166, p.247-254, 2000.

ARIAS, P., RODRIGUEZ, M., SZWAREFARB, B., SINAY, I.R., MOGUILEVSKY, J.A. Effect of insulin on GnRH release by perfused hypothalamic fragments. **Neuroendocrinology**, v.56, p.415-418, 1992.

ARMSTRONG D.G, MCEVOY, T.G., BAXTER, G., ROBINSON, J.J., HOGG, C.O., WOAD, J.K., WEBB, R. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology of Reproduction**, v.64, p.1624-1632, 2001.

ARMSTRONG D.G., CAMPBELL B.K., HOGG C.O., WEBB R. Insulin-like growth factor binding protein production by primary cultures of ovine granulosa and theca cells. The effect of IGF-I gonadotropin and follicle size. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1163-1171, 1996.

ARMSTRONG, D.G., GONG, J.G., WEBB, R. Interaction between nutrition and ovarian activity in cattle: Physiological, cellular and molecular mechanisms. **Reproduction Suppl.**, v.61, p.403-414, 2003.

AUSTIN, E.J., MIHM, M., EVANS, A.C.O., KNIGHT P.G., IRELAND, J.L.H., IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of bovine estrus cycle. **Biology of Reproduction**, v.64, p.839-848, 2001.

BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. Proceedings of the "usefulness of ionophores in lactating dairy cattle" symposium. **ADSA**. Guelph, Ontario. June 25-26,1997.

BASS, J.J., CLARK, R.G. The endocrine control and co-ordination of animal growth. **Meat Production and Processing**, occasional publication, n.11, p.103-112, 1989.

BEAM, S.W., BUTLER, W.R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. **Journal of Reproduction Fertility**, v.54(suppl), p. 411-424, 1999.

BERGEN, W.G., BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.58, p.1465-1483, 1984.

BOCCHI, A.L. Fatores de meio que influenciam o peso à desmama de bovinos da raça Nelore em diferentes regiões geográficas. **Dissertação de mestrado**, FCAV, UNESP, Jaboticabal, 2003.

BOSSIS I., WETTMANN, R.P., WELTY, S.D., VIZCARRA, J.A., SPICER, L.J., DISKIN, M.G. Nutritionally induced anovulation in beef reifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. **Journal of Animal Science**, v.77(6), p.1536-1546, 1999.

BOSSIS, I., WETTEMANN, R.P., WELTY, S.D., VIZCARRA, J.A., AND SPICER, L.J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology of Reproduction**, v.62, p. 1436-1444, 2000.

BUSHMICH, S. L., et al. Effect of dietary monensin upon ovarian response following gonadotropin treatment in pre-puberal heifers. **Journal of Animal Science**, v.51, p.692-697, 1980.

BUSTAMANTE, JR.B., FONSECA, F.A., FONTES, C.A.A. Efeito da condição corporal ao parto e da amamentação na eficiência reprodutiva de vacas da raça nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.1090-1095, 1997.

BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p. 449-457, 2000.

CICCIOLI, N.H., WETTEMANN, R.P., SPICER, L.J., KEISLER, D.H., LENTS, C.A., WHITE, F.J. Postpartum nutrient intake influences plasma concentrations of insulin-like growth factor-I during the resumption of ovarian function of primiparous beef cows. **Journal Animal Science**, v. 79, p. 19(Abstr), 2001. Supplement 2.

CORNELL NET CARBOHYDRATE AND PROTEIN SYSTEM, version 5.0.26.

CRONJÉ, P.B., NOLAN, J.V., LENG, R.A. Acetate clearance rate as a potential index of the availability of glycogenic precursors in ruminants fed on roughage-based diets. **Brit. Journal of Nutrition**, v.66, p301-312, 1991.

DANIEL, J.A., THOMAS, M.G., HALE, C.S., SIMMONS, J.M., KEISLER, D.H. Effect of cerebroventricular infusion of insulin and (or) glucose on hypothalamic expression of leptin receptor and pituitary secretion of LH in diet-restricted ewes. **Domestic Animal Endocrinology**, v.18, p.177-185, 2000.

DE VIRES, M.J., VEERKAMP, R.F. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.62-69, 2000.

DE VRIES, M.J., VAN DER BEEK, S., KAAL-LANSBERGEN, L.M.T.E., OUWELTJES, W., WILMINK, J.M.B. Modeling of energy balance in early lactation and the effect of energy deficits in early lactation on first detected estrus postpartum in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1927-1934, 1999.

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

DISKIN M.G., MACKEY D.R., ROCHE J.F., SREENAN J.M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.345-370, 2003.

ELLENBERGER, M.A., JOHNSON, D.E., CARSTENS, G.F., HOSSVER, K.L., HOLLAND, M.D., NETT, T.M., NOCKELS, C.F. Endocrine and metabolic changes during altered growth rate in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.67, p. 1446, 1989.

ELSASSER T.H., RUMSEY, T.S., HAMMOND A.C. Influence of diet on basal and growth hormone-stimulated plasma concentration of IGF-1 in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.67, p.128, 1989.

GOODMAN, R. L. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: **The Physiology of Reproduction**, second edition, edited by E Knobil & J D Neill, Raven Press Ltd, p. 659-709, 1994.

GRANGER, A.L., WYATT, W.M., THOMPSON, D.L HEMBRY, F.G. Effects of breed and wintering diet on growth puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-I in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v.6, p.253-263, 1989.

GUINTER, O.J., BERGFELT, D.R., BEG, M.A., KOT, K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v.64, p.197-205, 2001.

GUTIERREZ, C.G., OLDHAM, J., BRAMLEY, T.A., GONG, J.G., CAMPBELL, B.K., WEBB, R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1876-1884, 1997.

HARDIN, D.R., RANDEL, R.D. Effect on monensin in postpartum interval to first estrus and serum LH response to 0, 1, 2 or 4 mg estradiol at 21 days. **Teriogenology**, v.19, p.343-354, 1983.

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

LANA, R.P., RUSSELL, J.B. Efeitos da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumoso ou concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30(1), p.254-260, 2001.

LENTS, C.A., WETTEMANN, R.P., BOLANOS, J.M., WHITE, F.J., RUBIO, I., CICCIOI, N.H., SPICER, L.J. Influences of nutrition and body condition score on plasma concentrations of IGF-1 and thyroxine (T4) in gestating beef cows. **Journal Animal Science**, v.80, p.354, 2002. Supplement 1.

LESNIAK, M.A., HILL, J.M., KIESS, W., ROJESKI, M., PERT, C.B., ROTH, J. Receptors for insulin-like growth factors I and II. Autoradiographic localization in rat brain and comparison to receptors for insulin. **Endocrinology**, v.123, p. 2089-2099, 1988.

LIVINGSTONE, C., LYALL, H., GOULD, G.W. Hypothalamic GLUT 4 expression: A glucose- and insulin-sensing mechanism? **Mol. Cell. Endocrinology**, v.107, p.67-70, 1995.

MACKEY, D.R, WYLIE, A.R.G., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, steroid concentration in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.78, p.429-442, 2000.

MCCARTOR, M.M., RANDEL, R.D., CARROLL, L.H. Dietary alteration of ruminal fermentation on efficiency of growth and onset of puberty in Brangus heifers. **Journal of Animal Science**, v.48, n3, p.488-494, 1979.

MCGUIRE, M.A., DWYER, D.A., HARRELL, R.J., BAUMAN, D.E. Insulin regulates insulin-like growth factors and some of their binding proteins in lactating cows. **American journal of physiology and Endocrinology Metabolic**, v.269, p.E723-E730, 1995.

MEDINA, C.L., NAGATANI, S., DARLING, T.A., BUCHOLTZ, D.C., TSUKAMURA, H., MAEDA, K.I., FOSTER, D.L. Glucose availability modulates the timing of luteinizing hormone surge in the ewe. **Journal of Endocrinology**, v.10, p.785-792, 1998.

MONGET, P., MARTIN, G. B. Involvement of insulin –like growth factors in the interactions between nutrition and reproduction in female Mammals. **Hum. Reproduction**, v.12, p. 33-52, 1997. Supplement,1.

MOSELEY, W.M., DUNN, T.G., KALTENBACH, C.C. et al. **Journal of Animal Science**, v.55, n.2, p.357-362, 1982.

MOSELEY, W.M., MCCARTOR, M.M., RANDEL, R.D. Effects of monensin on growth and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.45, p.961-968, 1977.

MONTIFERRE, R.B., THEURER, B., SWINGLE, R.S., HALE, W.H. Effect of monensin on nitrogen utilization and digestibility of concentrate diets by steers. **Journal of Animal Science**, v.50, p.930-936, 1980.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Cattle**, seventh revised edition, 1996.

NICHOLAS, B., SCOUGALL, R.K., ARMSNTRONG, D.G., WEBB, R. Changes in insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) isoforms during bovine follicular development. **Reproduction**, v.124, p.439-446, 2002.

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

PADILA-RAMIREZ, F.J. Effect of dietary lasalocid during late pregnancy, postpartum period, and sex of calf on profiles of progesterone, estrogen, 12-14-dihydro-15-keto-prostaglandin and follicular patterns in Brahman cows. **Texas A&M University**. Tese de Doutorado, 1998.

PEARSON, A.M., DUTSON, T.R. **Growth regulation in farm animal, advance in meat research**. V.7, p.118-121, 1991.

PECLARIS, G.M., KOUTSOTOLIS, K., SEFERIADIS, K., MANTZIOS, A., NICOLAU, E., KOLIOS, G. Effect of monensin and progesterone priming on ram-induced reproductive performance of boutsiko mountain breed ewes. **Theriogenology**, v.51, p.531-540, 1999.

PORETSKY, L., KALIN, M.F. The gonadotropic function of insulin. **Endocrinology Review**, v.8, p.132-141, 1987.

PRESSMAN, B.C. Biological applications of ionophores. Annual review Bio-chemistry, v.45, p.501-503, 1976

RANDEL,R.D. Nutrition and post-partum re-breeding in cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p. 853-862, 1990.

RANDEL,R.D., RHODES, III.R.C. The effect of dietary monensin on the luteinizing hormone response of pre-puberal heifers a mutiple gonadotropin-releasing hormone challenge. **Journal of Animal Science**, v.54, p.925-931, 1980.

RANDEL, R.D., RUTTER, L.M., RHODES, III, R.C. Effect of monensin on the estrogen-induced LH surge in pre-puberal heifers. **Journal of Animal Science**, v.54, p.806, 810, 1982.

REED, B.K., HUNT, C.W., SASSER, R.G. et al. Effect of forage:concentrate ratio on digestion and reproduction in primiparous beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1708-1714, 1997.

REED, B.K., WISNANT, C.S. Effects of monensin and forage:concentrate ratio on feed intake, endocrine, and ovarian function in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.67, p.171-180, 2001.

REYNOLDS, C.K., TYRRELL, H.F., REYNOLDS, P.J. Effects of dietary forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growth beef heifers: net nutrient metabolism by visceral tissues. **Journal of Nutrition**, v.121, p. 994-1003, 1991.

RHODES, F.M., FITZPATRICK, L.A., ENTWISTE, K.W., DE'ATH, G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **Journal of Reproduction Fertility**, v.104, p.41-49, 1995.

RICHARDSON, L.F., RAUN, A.P., POTTER, E.L. Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Animal Science**, v.55, n.2, p.357-362, 1976.

ROBERTS, A. J., NUGENT, R. A., KLINDT, J., JENKINS, T. G. 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. **Journal Animal Science**, v. 75, p. 1909-1917, 1997.

ROCCO, V.V.B. Metodologias para avaliar a produção de leite de vacas Nelore. **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu**, dissertação de mestrado, 2004.

ROCHE, J.F., MACKEY, D., DISKIN, M.D. Reproductive management of postpartum cows. **Animal of Reproduction Science**, v.60/61, p.703-712, 2000.

RUKKWAMSUK, T., GEELEN, M.J.H., KRUIP, T.A.M., WENSING, T. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.52-59, 2000.

RUTTER, L.M., SNOPEK, R., MANNS, J.G. Serum Concentration of IGF-1 in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, v.67, p.2060-2066, 1989.

SANTOS, R.M., VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ, G.C., SÁ FILHO, O.G. Effects of body condition score on cyclicity in Holstein crossbreed Holstein/gir and nellore lactating cows. 15th Congress on Animal Reproduction, **Anais...**, v.2, p.290-291, 2004.

SAUER, F.D., KRAMER, J.K.G., CANTWELL, W.J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.436-442, 1989.

SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1271-1282, 1992.

SIMPSON, R.B., CHASE C.C., SPICER, L.J., VERNON, R.K., HAMMOND, A.C., RAE, D.O. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.102, p.483-492, 1994.

SINCLAIR K.D., REVILA R., ROCHE J.F., QUINTANS G., SANZ A., MACKEY D.R., DISKIN M.G. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows, **Journal of Animal Science**, v.75, p.115-126, 2002.

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

SPICER, L.J., ECHTERNKAMP, S.E., WONG, E.A., HAMILTON, D.T., VERNON, R.K. Serum hormones, follicular fluid steroids, insulin-like growth factors and their binding proteins, and ovarian IGF mRNA in sheep with different ovulation rates. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1152-1163, 1995.

SPROTT, L.R., GOEHRING, T.B., BEVERLY, J.R., CORAH, L.R. Effects on ionophores

on cow herd production: A review. **Journal of Animal Science**, v.66, p.1340-1346, 1988.

STAGG, K., SPICER, L.J., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biology of Reproduction**, Madison, v.59, p.777-783, 1998.

STAPLES, C.R., THATCHER, W.W., CLARK, J.A. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. **Journal of Animal Science**, v73, p.938-947, 1990.

STEVENSON, J.S., KNOPPEL, E.L., MINTON, J.E., SALFEN, B.E., GARVERICK, H.A. Estrus ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized in cows with and without unrestricted presence of the calf. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p.690-699, 1994.

STEVENSON, J.S., LAMB, G.C., HOFFMANN, D.P., MINTON, J.E. Interrelationships of lactating and postpartum anovulation in suckled and milked cows. **Livestock Production Science**, v. 50, p. 57-74, 1997.

STEWART, R., GOSDEM, R.E., SPICER, L.J., KEEFER, B.E. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3719-3731, 1995.

STRAUCH, T.A., FORBES, T.D.A., ABBEY, C.A., SICKENIUS, S.S., HENSARLING, C.M., RANDEL, R.D., WELSH, JR T.H. Effects of supplementation or dietary additives on somatotrophic axis in male goats consuming *Acacia berlandieri*. **Journal of Animal Science**, v.79(Supplement 2), p.8(Abstract), 2001.

STRYER, L. **Bioquímica**, terceira edição cap.20, p.404-405, 1988.

THISSEN, J.P., KETELSLEGERS, J.M., UNDERWOOD, L.E. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. **Endocrinology Review**, v. 15, p. 80-101, 1994.

VANHOLDER, T., LEROY, J.L.M.R., SOOM, A.V., OPSOMER, G., MAES, D., CORYN, M., KRUIF, A. Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro. **Animal Reproduction Science**, *In Press*, 2004.

VICINI, J.L., BUONOMO, F.C., VEENHUIZEN, J.J., MILLER, M.A., CLEMMONS, D.R., COLLIER, R.J. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factor I and II, and insulin-like growth binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. **Journal of Nutrition**, v.121, p.1656-1664, 1991.

WANDJI, S.A., PELLETIER, G., SIRARD, M.A. Ontogeny and cellular localization of ¹²⁵I-labelled insulin-like growth factor-I, ¹²⁵I-labelled follicle-stimulating hormone, and ¹²⁵I-labelled human chorionic gonadotropin binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves, **Biology of Reproduction**, v.47, p. 814-822, 1992.

WEBB, R., GARNSWORTHY, P.C., GONG, J.G., ARMSTRONG, D.G. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal Science**, v.82 (E. Suppl.), p. E63-E74, 2004.

WEBB, S.M., LEWIS, A.W., NEUENDORFF, D.A., RANDEL R.D. Effects of dietary rice bran, lasalocid, and sex of calf on postpartum reproduction in Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2986-2974, 2001

WETTEMANN R.P., LENTS C.A., CICCIOLOI N.H., WHITE F.J., RUBIO I. Nutritional and suckling mediated anovulation in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.81, p.48-59, 2003. E. Supplement, 2.

WILTBANK, M.C. Information of reproductive cyclicity in cattle. In: Curso "Novos enfoques na Produção e Reprodução de bovinos, II, 1998, Passos. **Anais...**,1998,54-69.

WILLIAMS, G.L., AMSTALDEN, M., GARCIA, M.R., STANKO, R.L., NIZICLSKI, S.E., MORRISON, C.D., KEISLER, D.H. Leptin and its the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.339-349, 2002.

WRIGHT, V.A. & RUSSEL, A.J. Partition of fat, body composition, and body condition score in mature cows. **Animal Production**, v.38, p.23-32, 1984.

YAVAS, Y., WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.1-23, 2000a.

YAVAS, Y., WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.25-55, 2000b.

YELICH, J. V., WETTEMANN, R. P., MARTSON, T. T., SPICER, L. J. Luteinising hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. **Domestical Animal Endocrinology**, v.13, p.325-338, 1996.

Efeito da suplementação com monensina no pré e pós-parto nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro do maior folículo e na sua capacidade ovulatória a um estímulo com GnRH de vacas Nelore

Resumo O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com monensina, em vacas nelore paridas a pasto, em anestro, nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro de maior folículo e na capacidade de resposta desse folículo a um estímulo ovulatório hormonal (GnRH). Nesse estudo foram usadas 302 vacas (123 primíparas e 179 múltíparas) que foram divididas em dois tratamentos, proporcionalmente, onde o lote controle recebeu apenas suplementação mineral e o lote tratado recebeu suplementação monensina (110mg/vaca/dia). Os tratamentos se iniciaram 30 dias pré-parto, onde avaliou-se o ECC pré-parto, até 90 dias pós-parto. Todas as vacas, em média aos 54 dias pós-parto, receberam um estímulo hormonal ovulatório (administração de 50 mcg de GnRH), foram avaliadas para o escore de condição corporal (escala de 1 a 5), colhido sangue para análise de IGF-1 e AGNE e foram avaliadas para o diâmetro folicular através de ultra-sonografia (US). Após 7 dias nova US foi realizada para verificar a taxa de ovulação. As variáveis foram submetidas à análise de variância pelo GLM do SAS. O ECC pós-parto foi maior ($p<0,01$) em vacas tratadas com monensina (3,11) que vacas controle (3,00); além disso, vacas tratadas não perderam ECC no período periparto enquanto vacas controle perderam 0,19 pontos. Vacas suplementadas com monensina (883,9 mmol/l) tiveram concentração plasmática de AGNE menor ($p<0,01$) que vacas controle (1013,8 mmol/l), caracterizando, junto com a ECC, menor mobilização de reservas. Já a concentração plasmática de IGF-1 foi maior ($p<0,01$) nas vacas tratadas (118,5 ng/ml) que vacas controle (85,1 ng/ml). Primíparas (118,0 ng/ml) apresentaram IGF-1 maior ($p<0,01$) que múltíparas (84,8 ng/ml). Vacas tratadas (10,07mm) apresentaram folículo maior que vacas controle (9,58mm) e múltíparas (10,35mm) maior que primíparas (9,30mm). A resposta ao estímulo ovulatório hormonal (GnRH) foi dependente do diâmetro do folículo e vacas suplementadas tiveram maior resposta (35,9%) que vacas controle (31,5%). Múltíparas também tiveram maior resposta (39,0%) que primíparas (26,1%). Suplementação com monensina foi eficiente em melhorar o “status” energético das vacas, devido a menor perda de ECC e menores níveis de AGNE. Também aumentou a concentração plasmática de IGF-1, o tamanho do maior folículo e a resposta ao estímulo hormonal ovulatório (GnRH).

Palavras-chave: Condição Corporal, anestro, ácidos graxos não esterificados

Effects of monensin supplementation peripartum on IGF-1 and NEFA concentration, follicular diameter and GnRH ovulatory response in Nellore cows

Abstract - The objective of this trial was to evaluate the effects of monensin supplementation in suckled anestrous Nellore cows on IGF-1 and NEFA concentrations, follicular diameter and GnRH ovulatory response. In this trial were used 302 cows (123 primiparous and 179 multiparous) divided in two treatments. The control group received only mineral supplementation and the treated group received monensin supplementation (110 mg/cow/day). The treatments began 30 days prepartum to 90 days postpartum. All cows, at average of 54 days postpartum, received hormonal ovulatory stimulation (50 mcg GnRH), BCS were evaluated (1 to 5 scale), blood samples were collected to IGF-1 and NEFA analysis and follicular diameter was measured by ultrasound (US). Seven days later ovulation rate was evaluated. Cows that received monensin had higher postpartum BCS (3.11) and lost less BCS at peripartum than control cows (3.00). Treated cows had lower ($P<0.01$) NEFA plasmatic concentration (883.9 mmol/l) than control cows (101.8 mmol/l), which associated with BCS suggests less reserve mobilization. IGF-1 plasmatic concentration was higher in treated cows (11.5 ng/ml) than control cows (85.1 ng/ml). Primiparous (118.0 ng/ml) had higher IGF-1 than multiparous (84.8 ng/ml). Treated cows had higher follicular diameter (10.07mm) than control cows (9.58mm) and multiparous (10.35mm) higher than primiparous (9.30mm). The hormonal ovulatory stimulation (GnRH) response is follicle diameter dependent and treated cows had higher response (35.9%) than control cows (31.5%). Monensin supplementation is a good strategy to improve energy status due to decrease in BCS loss and reduction of NEFA concentration. Monensin supplementation also increased IGF-1 plasmatic concentration, follicular diameter and hormonal (GnRH) ovulatory response.

Key-words: Body Condition Score , anestrus, non etherify fat acids.

Introdução

Os efeitos da nutrição sobre a reprodução são, há muito tempo conhecidos e largamente discutidos. Aristóteles (384-322 a.C., citado por MEDVEI, 1982) escreveu que a nutrição é o fator ambiental mais importante para controlar a concepção. Os efeitos da nutrição sobre a reprodução de bovinos na era moderna são similares aos reportados em sociedades ancestrais. Vacas de leite com escore de condição corporal (ECC) baixo ou perdendo peso geralmente têm desempenho reprodutivo pós-parto prejudicado e priorizam sua energia metabolizável para a produção de leite (LUCY, 2003). Da mesma forma, vacas de corte mobilizam reservas corporais para beneficiar o bezerro (RHODES et al., 1995). Nessas situações, a vaca utiliza suas reservas de energia, perdendo peso e entrando em balanço energético negativo (BEN). Beam and Butler (1998) demonstraram que existe uma correlação positiva entre a duração e severidade do BEN com o intervalo parto-primeira ovulação. Butler (2000) descreveu esse fenômeno mais detalhadamente observando que a intensidade e duração do BEN diminui a pulsatilidade de LH e a capacidade de resposta do ovário a um estímulo externo.

Vacas sofrendo restrição alimentar e consequentemente em BEN tem concentrações plasmáticas de glicose e insulina reduzidas e concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) aumentadas (MACKEY et al., 2000 e BOSSIS et al., 1999). A concentração de IGF-1 circulante declina no parto e aumenta gradualmente no decorrer do período pós-parto (VICINI et al., 1991); está diretamente associada com o escore de condição corporal (ECC) e o consumo de alimento (YELICH et al. 1996) e inversamente correlacionadas com a severidade do BEN (GONG, 2002).

A ingestão de alimentos e a intensidade e duração do BEN pós-parto influenciam o crescimento folicular e isso pode ser mediado via IGF-1 (DISKIN et al., 2003). A diminuição da concentração sistêmica de IGF-1 diminui a frequência de pulsos de LH, a concentração intrafolicular de IGF-1 e o diâmetro do folículo dominante, determinando um maior intervalo parto-primeira ovulação (ROCHE et al., 2000). Portanto, concentração baixa de IGF-1 está associada com um período de anestro pós-parto mais prolongado em vacas de corte (ROBERTS et al., 1997).

A eficiência na conversão alimentar e fatores que a envolvem têm grande importância na intensidade do BEN. A monensina modifica a fermentação ruminal e melhora a eficiência da conversão alimentar (RICHARDSON et al., 1976). Resultados de 228 ensaios indicaram aumento na eficiência alimentar de 6,4% e animais em regime de pasto, suplementados com monensina ganharam 13,5% mais peso que

animais controle (GOODRICH et al., 1984). Isso ocorre pelo do aumento da produção de propionato, diminuição da metanogênese, da deaminação e dos níveis de ácido láctico. O aumento do propionato eleva as concentrações plasmáticas de glicose e insulina, aumentando a retenção tecidual de energia (REYNOLDS et al., 1991). Isso reflete positivamente na eficiência reprodutiva (SPROTT et al., 1988) diminuindo o período de anestro pós-parto (HARDIN E RANDEL, 1983; WEBB et al., 2001). Randel e Rhodes (1980) demonstraram efeito significativo da suplementação com monensina na hipófise e na função ovariana de novilhas, e verificaram que animais tratados tiveram aumento da pulsatilidade LH. Já Tallam et al. (2003) não encontraram efeito significativo da suplementação com monensina (22mg/Kg de MS) no desenvolvimento do folículo dominante.

Devido aos benefícios da monensina na eficiência alimentar, no aproveitamento da energia da dieta e, portanto na potencial capacidade de minimizar o BEN, é necessário verificar sua influência nos parâmetros endócrinos, metabólicos e na dinâmica folicular para entender sua influência na reprodução. A hipótese é que suplementação com monensina aumenta o diâmetro folicular e a resposta a um estímulo ovulatório hormonal (GnRH), devido ao aumento da produção de propionato e do fluxo de nutrientes para o organismo, que estão positivamente relacionados com concentrações circulantes de IGF-1. Este por sua vez, estimula a liberação de GnRH que aumenta a produção de LH e a sensibilidade do folículo ao LH. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com monensina, em vacas nelore paridas a pasto, em anestro, nas concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1, no diâmetro de maior folículo e na capacidade de resposta desse folículo a um estímulo ovulatório hormonal (GnRH).

Material e Métodos

Local, clima e pastagem

O experimento foi desenvolvido na Companhia Agrícola e Pastoril – Fazenda Rio Pardo, localizada no município de Iaras, estado de São Paulo (latitude 22° 48' 45" sul e longitude 49° 11' 15" oeste). O período experimental foi de novembro de 2002 a março de 2003.

Esses meses são caracterizados pelo clima quente e chuvoso onde a pluviosidade e a temperatura média foram: novembro, 100mm de precipitação e 25°C de temperatura média; dezembro, 100mm e 24 °C; janeiro, 350mm e 23 °C; fevereiro, 140mm e 27 °C e março, 160mm e 23 °C.

Os animais foram mantidos em pastos de ***Brachiaria brizanta***, com oferta de forragem aproximada de 1100 Kg de MS/ha. A avaliação da disponibilidade de forragem foi feita pelo método do rendimento comparativo. Esse método consiste em determinar 5 padrões (notas) de disponibilidade de pasto e, em área determinada (quadrado) medir a quantidade de pasto. Após esse processo são dadas notas (1-5) para vários pontos da área de pastejo e definida por comparação com os padrões a oferta de forragem. A forragem, durante o experimento, apresentou concentrações médias de 8,5% de PB. Segundo o NRC (1996) uma pastagem com essas características permite o bom desempenho produtivo dos animais, sem limitação de proteína ou ingestão de matéria seca.

Animais

Foram selecionadas 400 vacas Nelore gestantes, sendo destas, utilizadas 302, sendo 123 primíparas e 179 multíparas, devido à distribuição homogênea das datas de parição. O intervalo máximo entre as partições foi de 40 dias.

Tratamento

As vacas foram divididas blocos casualizados generalizados respeitando a proporção de primíparas e multíparas e em dois tratamentos, sem e com suplementação de monensina. O tratamento 1, controle, com 150 vacas consistia em um suplemento mineral ***ad libitum***, com ingestão média de 100 gramas/cabeça/dia (Minerthal 90, Minerthal Prod. Agrop. Ltda, São Paulo, Brasil), e níveis de garantia descritos na Tabela 1.

No tratamento 2, com suplementação de monensina foram utilizadas 152 vacas que receberam uma mistura de sal mineral, monensina e polpa cítrica formando um suplemento oferecido ***ad libitum*** (tabela 2). A ingestão média desse suplemento foi de 450 gramas/vaca/dia. A ingestão média de Rumensin (Rumensin[®], Elanco do Brasil S.A., São Paulo, Brasil) foi de 1,1 gramas/vaca/dia. Como o Rumensin tem 10% de monensina sódica, a ingestão média diária foi de 110 miligramas/vaca. Foi utilizada esta dose de acordo com a orientação sugerida pelo fabricante da monensina sódica (Elanco do Brasil S.A., São Paulo, Brasil). Segundo Potter et al. (1976) 200mg seria a dosagem ideal para obter os melhores resultados em animais com dieta baseada em forragem. A adição de polpa cítrica no suplemento teve por objetivo padronizar a ingestão de monensina e minerais e evitar uma possível influência negativa, exercida pela monensina na ingestão do suplemento e da pastagem.

O período de suplementação iniciou-se 45 dias pré-parto, sendo que os 15 primeiros dias foram considerados para adaptação dos animais ao suplemento. A suplementação foi interrompida aos 90 dias pós-parto. O suplemento era fornecido a cada dois dias em cochos cobertos com espaço suficiente para todos os animais de aproximadamente 10 cm por cabeça. Devido à época das chuvas a mistura era substituída sempre que necessário mantendo a oferta de suplemento constante.

Utilizou-se de uma aplicação de GnRH, 50 mcg (gonadorelina; CYSTORELIN[®] (1ml) , Merial Ltd., EUA) via intramuscular, em todos os animais para determinar a capacidade de ovulação. A aplicação foi feita no mesmo dia da coleta de dados, em média, aos 54 dias pós-parto.

Coleta de dados

A avaliação do escore de condição corporal (ECC) foi realizada durante o experimento por dois técnicos. A metodologia utilizada foi a descrita por Lowman et al. (1976), com escala de 1 (muito magra) a 5 (muito gorda) adaptada para intervalos de 0,25. Avaliou-se o ECC das vacas no início do tratamento, em média aos 30 dias pré-parto e no pós-parto (aos 54 dias pós-parto).

A avaliação do ECC pós-parto, a colheita das amostras de sangue para dosar AGNE e IGF-1 e a avaliação por ultra-som para medir o tamanho do maior folículo e a aplicação de GnRH foram feitas em todos os animais, no mesmo momento e em média aos 54 dias pós-parto.

As amostras de sangue foram coletadas na veia coccídea em tubos “vacutainers” contendo anticoagulante heparina sódica. Em seguida foram

centrifugadas a aproximadamente 1000 x g durante 20 minutos. O plasma foi retirado e armazenado a 20° C.

Avaliação por ultra-som

Os exames de ultra-som foram realizados pelo mesmo técnico com aparelho Aloka modelo SSD-500 e transdutor linear de 7,5 MHz, via retal.

Avaliou-se a ciclicidade dos animais pela presença ou ausência de CL em pelo menos um exame ultra-sonográfico realizados no dia -10 ou no dia 0 da aplicação do GnRH. As vacas que estavam ciclando (17/302) foram excluídas das análises estatísticas, portanto somente os dados de vacas em anestro foram considerados para as análises.

O diâmetro do maior folículo foi determinado por ultra-sonografia no dia da aplicação de GnRH (dia 0) e no dia sete foi avaliada a resposta (ovulação) ao estímulo hormonal ovulatório (GnRH) pela presença ou não do Corpo Lúteo (CL), também por US.

Análises laboratoriais

Amostras de todos as vacas foram analisadas em duplicata para concentrações plasmáticas de IGF-1 e AGNE. As análises de IGF-1 foram realizadas no Laboratório de dosagens hormonais (LDH) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP em São Paulo e as análises de AGNE foram realizadas no laboratório do Dep de Bioquímica da Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinárias (FCAV) da UNESP de Jaboticabal.

Concentrações plasmáticas de IGF-1 foram determinadas pelo método comercial imunorradiométrico (IRMA), DSL 5600 Active®, distribuidor Gênisis, São Paulo. O procedimento emprega um ensaio IRMA de dois sítios, descrito por Milles et al. (1974) e inclui uma etapa de extração simples na qual o IGF-1 é separado das suas proteínas de ligação. Concentrações de AGNE foram determinadas pelo método comercial NEFA-C Kit (Wako Chemicals USA, 1600 Bellwood Rd. Richmond, VA 23237)

Análise Estatística

As variáveis ECC pré-parto, ECC aos 54 dias, diferença de ECC, IGF-1, AGNE e diâmetro do maior folículo foram submetidas à análise de variância pelo processo “general linear model” (GLM) do programa “Statistical Analysis System” (SAS) (SAS Institute, 2002). No modelo foram incluídos os efeitos de tratamento, ordem (primíparas ou multíparas), sexo do bezerro e respectivas interações. Além disso, foram incluídas algumas co-variáveis, quando sua influência era significativa. Para ECC aos 54 dias foram incluídas as co-variáveis dias pós-parto e ECC pré-parto; para diferença de ECC foi incluída dias pós-parto; para AGNE foi incluída dias pós-parto e em um modelo separado o IGF-1 para verificar seu efeito; para diâmetro do maior folículo foram incluídas dias pós-parto e ECC pré-parto e, em um modelo separado, IGF-1 para verificar seu efeito.

A taxa de ovulação ao estímulo hormonal (GnRH) foi analisada por regressão logística por meio do programa “LOGISTIC” do SAS. Os efeitos foram os mesmos das outras análises; e ainda foram incluídas as co-variáveis diâmetro do maior folículo e IGF-1 em modelo distintos.

Resultados e Discussão

Escore de condição Corporal

O ECC pré-parto e pós-parto das vacas suplementadas com monensina foi $3,10 \pm 0,02$ e $3,11 \pm 0,03$ e das vacas não suplementadas foi de $3,20 \pm 0,02$ e $3,00 \pm 0,02$, respectivamente. A diferença entre o ECC pós e pré-parto (tabela 3) para as vacas não suplementadas, foi de -0,19, ou seja, perda de 0,19 pontos de ECC, enquanto que as vacas tratadas com monensina, não apresentaram perda de ECC ($p < 0,01$). A variação de ECC no período pós-parto está associada a um período de BEN (FERGUSON, 1996).

Esses dados estão de acordo com Duffield, et al. (1998) que verificaram melhor ECC para vacas de leite tratadas com monensina em comparação a não tratadas e menor perda de ECC no período pós-parto. Strauch et al. (2003) também observaram menor perda de ECC de vacas Brahman tratadas com monensina no período periparto. Manson & Randel (1983) não observaram alteração do ECC em vacas tratadas com monensina. A provável explicação para vacas recebendo monensina terem menor perda de ECC que vacas controle é a capacidade do ionóforo de melhorar a condição energética da vaca e reduzir a perda de peso pós-parto.

Ácidos graxos não esterificados

A variação de ECC pós-parto pode sinalizar a intensidade do BEN, porém pela concentração plasmática de AGNE pode-se avaliar mais objetivamente a quantidade de reservas corporais mobilizadas. As vacas tratadas com monensina mantiveram o ECC e apresentaram concentração plasmática de AGNE de $883,9 \pm 33,0$ mmol/l, enquanto vacas controle perderam 0,19 pontos de ECC ($p < 0,01$) e apresentaram concentração plasmática de $1013,8 \pm 32,2$ mmol/l (tabela 3), confirmando a menor mobilização de reservas das vacas tratadas com monensina e sugerindo menor intensidade do BEN.

Dados similares foram relatados por Thomas et al. (1993), onde vacas de leite recebendo monensina tiveram redução dos níveis plasmáticos de AGNE. Além disso, experimentos anteriores (BOSSIS et al., 1999 e MACKEY et al. 2000) demonstram que animais que sofrem restrição alimentar têm níveis plasmáticos maiores de AGNE. Já Knowlton et al. (1996) não verificaram diferença no AGNE de vacas de leite tratadas ou não com lasalocida durante o período pós-parto. Slyter (1976) verificou

redução dos AGNE em vacas múltiparas tratadas com monensina, porém primíparas não apresentaram redução, nesse e no estudo de Sauer et al. (1989).

IGF-1

O tratamento com monensina influenciou ($p<0,01$) os níveis plasmáticos de IGF-1 sendo que vacas suplementadas com monensina apresentaram concentração plasmática maior ($118,5\pm6,2$ ng/ml) que vacas controle ($85,1\pm6,0$ ng/ml) (tabela 3). Peclaris et al. (1999) estudando ovelhas tratadas ou não com monensina (30mg) verificaram que as tratadas tiveram concentração maior de IGF-1. Já Strauch et al. (2001) não encontraram benefício da suplementação com monensina nos níveis de IGF-1 em dietas com alta densidade energética, porém relataram aumento da expressão de RNA mensageiro para IGF-1 no fígado.

A capacidade da monensina em alterar a fermentação ruminal e manter concentrações elevadas de propionato, glicose e insulina deve ter determinante influência no sistema GH/IGF-1. Em vacas em BEN ocorre diminuição de GHR-1A (KOBAYASHI et al., 1999). Esse é o receptor de GH no fígado, que em situação normal, estimula a síntese de IGF-1. O BEN mantém baixo o número de receptores GHR-1A, não ocorrendo estímulo para a produção de IGF-1, mantendo baixa sua concentração plasmática e alta a concentração de GH. Quando os níveis de insulina e outros metabólitos ligados ao aumento do fluxo de nutrientes para o organismo aumentam, diminui a severidade do BEN (ROCHE & LUCY, 2005). Com isso aumentam os receptores GHR-1A, que por sua vez são estimulados pelo GH e estimulam a síntese de IGF-1. O aumento da concentração plasmática de IGF-1, por “feedback” negativo, diminui a produção de GH e consequentemente sua concentração. A mudança nas concentrações desses dois hormônios sinaliza para o organismo um melhor “status” energético e uma diminuição no BEN (McGUIRE et al., 1995).

Stagg (2000), usando o modelo de restrição alimentar, observou que novilhas ciclando apresentam redução linear da concentração plasmática de IGF-1 do começo da restrição até o início do anestro. Durante a realimentação, as concentrações aumentaram, também linearmente até o retorno à ciclicidade. Essa afirmação deixa clara a ligação do fluxo de nutrientes para o organismo com a concentração plasmática de IGF-1.

Foi observada diferença ($p<0,01$) na concentração plasmática de IGF-1 (tabela 3) entre primíparas ($118,0 \pm 6,7$ ng/ml) e múltiparas ($84,8 \pm 5,5$ ng/ml). Primíparas apresentam maior concentração circulante de IGF-1 (YELICH et al. 1995). Macmillam

et al. (2004) observaram que novilhas holandesas tinham IGF-1 maior (100 ng/ml) que vacas (56 ng/ml) aos 50 dias pós-parto. Primíparas ainda estão em crescimento e o IGF-1, além de funcionar como sinalizador metabólico para o organismo, também está envolvido no processo de crescimento. Devido a essa característica metabólica em primíparas, a concentração de IGF-1 não reflete, diretamente, a condição energética do animal.

Foi detectado um efeito negativo ($p < 0,01$) entre as concentrações plasmáticas de AGNE e IGF-1 (gráfico 1). O GH que estimula a síntese de IGF-1 também age no tecido adiposo. Lucy et al. (2001) observaram que em vacas em BEN a concentração de GH é alta. Altas concentrações de GH estimulam a lipólise, mobilizando energia reservada no tecido adiposo e aumentando a concentração plasmática de AGNE. Através do aumento do IGF-1 e sua ação de “feedback” negativo, diminuindo a concentração de GH, diminui também o estímulo para a lipólise no tecido adiposo diminuindo a concentração plasmática de AGNE. Pode-se afirmar então que alta concentração de AGNE sinaliza balanço energético negativo e alta concentração de IGF-1 sinaliza balanço energético positivo.

Folículo

O tratamento com monensina influenciou o tamanho do maior folículo ($p < 0,03$), sendo que vacas suplementadas com monensina ($10,07 \pm 0,16\text{mm}$) tiveram folículo maior que as vacas não suplementadas ($9,58 \pm 0,20\text{mm}$) (tabela 3). Também detectou-se ($p < 0,01$) influência direta do IGF-1 no tamanho do maior folículo. Quando o IGF-1 foi colocado como co-variável no modelo estatístico onde a variável dependente é o tamanho do folículo, não observou-se efeito de tratamento, sugerindo que o efeito do tratamento com monensina sobre o desenvolvimento folicular se deu por intermédio do IGF-1.

O diâmetro do maior folículo pode ter sido maior, nas vacas tratadas com monensina, por dois fatores: maior pulsatilidade de LH e/ou aumento do número de receptores de LH.

O IGF-1 pode influenciar a secreção de GnRH e LH, e sua ação é provavelmente, estimulando a liberação de GnRH no hipotálamo (DISKIN et al., 2003). Células da hipófise de ovelhas tratadas com IGF-1 tiveram aumento de secreção de LH (ADAM et al. 2000). A pulsatilidade de LH é necessária para o crescimento dos folículos e a maturação de folículos pré-ovulatórios (Stock and Fortune, 1993; Roberson et al., 1989). A concentração de IGF-1 também pode ter efeito direto no folículo (MONGET et al., 2002). A concentração intrafolicular de IGF-1, que tem

correlação direta com a concentração plasmática, provoca um aumento dos receptores de gonadotrofinas (LUCY, 2000). Esse efeito envolve o estímulo da proliferação das células da granulosa, da teca e aumento da esteroidogênese (SPICER et al., 1995; STEWART et al., 1995), e o aumento dos sítios de ligação para IGF-1 é seguido pelo aumento dos sítios de ligação para hCG/LH, (STANKO et al., 1994).

As informações citadas acima mostram a importância da concentração de IGF-1 no desenvolvimento folicular. Sua relação com o BE através do sistema GH/IGF-1 pode explicar a estreita relação do BEN com o retorno à ciclicidade.

Vacas com maior concentração de IGF-1 tiveram folículos maiores (gráfico 2) e vacas suplementadas com monensina apresentaram maior concentração plasmática de IGF-1 e folículos maiores que vacas não suplementadas (gráfico 2). Estes dados em conjunto sugerem que vacas suplementadas com monensina devem ter apresentado maior pulsatilidade de LH e maior sensibilidade do folículo aos pulsos de LH proporcionando um maior crescimento do folículo.

Apesar de primíparas apresentarem concentração plasmática de IGF-1 maior (tabela 3) que multíparas, apresentaram folículos menores, $9,30 \pm 0,17\text{mm}$ vs. $10,35 \pm 0,14\text{mm}$ que as multíparas ($p < 0,01$). Além disto, na mesma concentração plasmática de IGF-1 primíparas sempre apresentaram folículos com menor diâmetro (gráfico 3).

Apesar das concentrações de IGF-1 e AGNE estarem relacionadas, não foi detectado efeito do AGNE no tamanho do maior folículo. Alguns estudos indicam um possível efeito da concentração de AGNE no desenvolvimento folicular. Shrestha et al. (2004) associam alta concentração de AGNE com atraso na primeira ovulação pós-parto. Rukkwamsuk et al. (2000) afirmaram que durante o período de BEN, a concentração plasmática de AGNE é elevada e está refletida no fluido folicular (COMIM et al., 2002), onde pode prejudicar o desenvolvimento folicular pelo seu caráter tóxico para as células da granulosa caracterizando sua interferência direta na reprodução (JORRITSMA et al., 2003). Por outro lado, a concentração de AGNE não influencia a secreção de LH (RICHARDS et al., 1989 e DiConstanzo et al., 1999).

Resposta ao estímulo ovulatório

A resposta ao estímulo ovulatório (GnRH) depende da presença de um folículo com capacidade ovulatória no momento do tratamento (PURSELY, et al., 1995). Um folículo passa a ter essa capacidade ovulatória quando a divergência do folículo dominante expressa um aumento no número de receptores para LH e esse, atinge um tamanho de $\sim 10\text{mm}$ em vacas holandesas (SARTORI et al., 2001).

Vacas que receberam suplementação com monensina, apresentaram maior ($p<0,02$) taxa de ovulação 35,9% (folículo de $10,07 \pm 0,16\text{mm}$) à aplicação de GnRH que vacas controle 31,5% (folículo de $9,58 \pm 0,20\text{mm}$) (tabela 3). Da mesma forma se comportaram múltiparas 39,0% (folículo de $10,35 \pm 0,14\text{mm}$) e primíparas 26,1% (folículo de $9,30 \pm 0,17\text{mm}$) ($p<0,01$) (tabela 3). Esta afirmação está de acordo com Meneguetti et al. (2001) que relataram que, em vacas em anestro a taxa de ovulação após aplicação de GnRH foi influenciada pelo diâmetro do folículo dominante no dia da aplicação do GnRH, 10,63mm vs. 9,56mm, para vacas que ovularam e não ovularam, respectivamente. Bao et al (1997) observaram também que o mRNA dos receptores de LH aumentam duas vezes para um folículo de 13,2mm comparados com um de 10,8mm e aumentam mais duas vezes para um folículo de 15,0mm comparado com o de 13,2mm, aumentando sua capacidade de resposta a um estímulo ovulatório. Confirmando essa observação, Sartori et al. (2001) afirmaram que, folículos $\leq$ a 10mm não tem capacidade ovulatória (0 de 19), folículos entre 10mm e 12mm tem baixa capacidade ovulatória (1 de 6) e folículos $\geq$ a 12 mm tem maior capacidade ovulatória (16 de 16).

Independente de tratamento, as variáveis concentração plasmática de IGF-1 e tamanho do folículo, analisadas separadamente, exerceram efeito significativo na resposta ao estímulo ovulatório (gráficos 4 e 5). Porém, quando a co-variável tamanho do folículo é incluída no modelo estatístico junto com IGF-1, esse efeito desaparece, sugerindo que o efeito do IGF-1 sobre a taxa de ovulação se dá através de sua influência no aumento do tamanho do folículo.

A persistência do folículo dominante e o aumento de seu diâmetro, com o consequente aumento dos receptores de LH aumentam a capacidade de resposta a um estímulo ovulatório (XU et al., 1995). Portanto, vacas suplementadas com monensina que apresentaram maior IGF-1 e maior diâmetro de folículo que vacas não suplementadas, apresentam maior capacidade ovulatória, provavelmente, devido a dois fatores: a maior persistência deste folículo e consequentemente maior responsividade ao estímulo de LH; e o aumento dos receptores de LH no folículo, aumentando sua sensibilidade ao LH.

Conclusões

A suplementação com monensina em vacas Nelore paridas em anestro melhorou o “status” energético pós-parto, pois manteve o ECC, diminuiu as concentrações plasmáticas de ácidos graxo não esterificados (AGNE), aumentou as de IGF-1, aumentou o diâmetro do maior folículo e sua capacidade ovulatória ao estímulo com GnRH.

Referências Bibliográficas

ADAM, C. L., GADD, T.S., FINDLAY, P.A., WATHES, D.C. IGF-1 stimulation of luteinizing hormone secretion, IGF-binding proteins (IGFBPs) and expression of mRNAs for IGFs, IGF receptors and IGFBPs in the ovine pituitary gland. **Journal of Endocrinology**, v.166, p.247-254, 2000.

BAO, B., GARVERICK, H.A., SMITH, G.W., SMITH, M.F., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Changes in ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. **Biology of Reproduction**, v.56, p.1158-1168, 1997.

BEAM S. W., BUTLER W. R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. **Journal of Reproduction Fertility**, v.54(suppl), p. 411-424, 1999.

BEAM, S. W., BUTLER, W. R. Energy balance, metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 121-131, 1998.

BOSSIS I., WETTMANN, R.P., WELTY, S.D., VIZCARRA, J.A., SPICER, L.J., DISKIN, M.G. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. **Journal of Animal Science**, v.77(6), p.1536-1546, 1999.

COMIN, A., GERIN, D., CAPPAS, A., MARCHI, V., RENAVILLE, R., MOTTA, M., FAZZINI, U., PRANDI, A. The effect of an acute energy deficit on the hormone profile of dominant follicles in dairy cows. **Theriogenology**, v.58, p.899-910, 2002.

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

DISKIN M.G., MACKEY D.R., ROCHE J.F., SREENAN J.M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.345-370, 2003.

DUFFIELD, T.F., SANDALS, D., LESLIE, K.E., LISSEMORE, K., McBRIDE, B.W., LUMSDEN, J.H., DICK, P., BAGG, R. Effect of prepartum administration of monensina in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2354-2361, 1998.

FERGUNSON, J.D. Diet production and reproduction in dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v. 59, p. 173-184, 1996.

GONG, J.G. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.229-241, 2002.

GOODRICH, R.D., GARRETT, J.E., GAST, D.R. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal Animal Science**, v. 58, p. 1484-1498, 1984.

HARDIN, D.R., RANDEL, R.D. Effect on monensin in postpartum interval to first estrus and serum LH response to 0, 1, 2 or 4 mg estradiol at 21 days. **Theriogenology**, v.19, p.343-354, 1983.

JORRITSMA. R., DE GROOT, M.W., VOS, P.L.A.M., KRUIP, T.A., WENSING, T., NOORDHUIZEN, J.P.T.M. Acute fasting in heifers as a model for assessing the relationship between plasma and follicular fluid NEFA concentrations. **Theriogenology**, v. 60, p. 151-161, 2003.

KNOWLTON, K.F., ALLEN, M.S., ERICKSON, P.S. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 1. Effect on performance, serum metabolites, and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.557-564, 1996.

KOBAYASHI, Y., BOYD, C.K., BRACKEN, C.J., LAMBERSON, W.R., KEISLER, D.H., LUCY, M.C. Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor-I. **Endocrinology**, v. 140, p. 3947-3954, 1999.

LOWMAN, B.G., et al. Condition scoring of cattle. **Edinburg: The west of Scotland College of Agriculture**, p. 1-13, bulletin 6, 1976.

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

LUCY M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1277-1293, 2001.

LUCY, M.C. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. **Reproduction Supplement**, v.61, p.415-427, 2003.

MACKEY, D.R, WYLIE, A.R.G., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. The effect of acute nutritional change on follicular wave turnover, gonadotropin, steroid concentration in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.78, p.429-442, 2000.

MACMILLAN, K.L. IGF-1 and IGF-BP3 concentrations in the milk and blood plasma of pasture-fed Holstein cows and heifers in Victorian dairy herds. **Dairy Australia**, Melbourne Australia, 2004.

MANSON, G.L., RANDEL, R.D. Effect of monensina and suckling on the GnRH induced luteinizing hormone surge and the effect of monensina on postpartum interval in Brangus cows. *Theriogenology*, v.19(Insert 3), p.331-342, 1983.

MCGUIRE, M.A., DWYER, D.A., HARRELL, R.J., BAUMAN, D.E. Insulin regulates insulin-like growth factors and some of their binding proteins in lactating cows. **American journal of physiology and Endocrinology Metabolic**, v.269, p.E723-E730, 1995.

MEDVEI, V.C. A history of endocrinology. **MTP Press**, Lancaster, England, 1982.

MENEGUETTI, M.; VILELA, E.R.; VASCONCELOS, J.L.M.; CERRI, R.L.A.; FERREIRA JR,N. Efeito da remoção de bezerros no folículo dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas nelore em anestro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 3, p. 286-288, 2001.

MILLES, L.E.M.; LIPSCHITZ, D.A.; BIEBER, C.P.; COOK, J.D. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. **Analytical Biochemistry**, v. 61, p. 209-224, 1974.

MONGET, P., FABRE, S., MULSANT, P., LECERF, F., ELSEN, J.M., MAZERBOURG S., PISSELET, C., MONNIAUX, D. Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.139-154, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Cattle**, seventh revised edition, 1996.

PECLARIS, G.M., KOUTSOTOLIS, K., SEFERIADIS, K., MANTZIOS, A., NICOLAU, E., KOLIOS, G. Effect of monensin and progesterone priming on ram-induced reproductive performance of boutsiko mountain breed ewes. **Theriogenology**, v.51, p.531-540, 1999.

POTTER, E.L., COOLEY, C.O., RICHARDSON, L.F., RAUN, A.P., RATHMACHER, R.P. Effect of monensina on performance of cattle fed forage. **Journal of Animal Science**, v.43, p.665-669, 1976.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF_{2α}. **Theriogenology**, New York, v. 44, p. 915-923, 1995.

RANDEL, R.D., RHODES, III, R.C. The effect of dietary monensin on the luteinizing hormone response of pre-pubertal heifers a multiple gonadotropin-releasing hormone challenge. **Journal of Animal Science**, v.54, p.925-931, 1980.

REYNOLDS, C.K., TYRRELL, H.F., REYNOLDS, P.J. Effects of dietary forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: net nutrient metabolism by visceral tissues. **Journal of Nutrition**, v.121, p.994-1003, 1991.

RHODES, F.M., FITZPATRICK, L.A., ENTWISTE, K.W., DE'ATH, G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in **Bos indicus** heifers before and after nutritional anestrus. **Journal of Reproduction Fertility**, v.104, p.41-49, 1995.

RICHARDS, M.W., WETTEMANN, R.P., SCHOENEMANN, H.M. Nutritional anestrus in beef cows: Concentrations of glucose and monosterified fatty acids in plasma and insulin in serum. **Journal Animal Science**, v. 67, p. 2354-2362, 1989.

RICHARDSON, L.F., RAUN, A.P., POTTER, E.L. et al. Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Animal Science**, v.55, n.2, p.357-362, 1976.

ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W.; STUMPF, T.T.; KITTOCK, R.J.; KINDER, J.E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum in cows receiving two levels of progesterone. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 41, p. 997-1003, 1989.

ROBERTS, A.J.; NUGENT, R.A.; KLINDT, J.; JENKINS, T.G. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of oestrus in post-partum cows subjected to dietary energy restriction. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1909-1917, 1997.

ROCHE, J.F., MACKEY, D., DISKIN, M.D. Reproductive management of postpartum cows. **Animal of Reproduction Science**, v.60/61, p.703-712, 2000.

RUKKWAMSUK, T., GEELEN, M.J.H., KRUIP, T.A.M., WENSING, T. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.52-59, 2000.

SARTORI, R., FRICKE, P.M., FERREIRA, C.P., GUINThER, O.J., WILTBANK, M.C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 1403-1409, 2001.

SAS Institute, 2002. **SAS® User's Guide**: Statistic, SAS Intitute Inc, Cary, NC.

SAUER, F.D., KRAMER, J.K.G., CANTWELL, W.J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.436-442, 1989.

SHRESTHA, H.K., NAKAO, T., HIGAKI, T., SUZUKI, T., AKITA, M. Resumption of postpartum ovarian eyelicity in high- producing Holstein cows. **Therigenology**, v. 61, p. 637-649, 2004.

SLYTER, L.L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, v.43, p.910, 1976.

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

SPROTT, L.R., GOEHRING, T.B., BEVERLY, J.R., CORAH, L.R. Effects on ionophores on cow herd production: A review. **Journal of Animal Science**, v.66, p.1340-1346, 1988.

STAGG, K. Anoestrus in the post-partum suckled beef cow and in the nutritionally restricted beef heifer. Ph.D. Dissertation. The National University of Ireland, Dublin, 2000.

STANKO, R.L., COHICK, W.S., SHAW, D.W., HARVEY, R.W., CLEMMONS, D.R., WHITACRE, M.D., ARMSTRONG, J.D. Effect of somatotropin and /or equine chorionic gonadotropin on serum and follicular insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins in cattle. **Biology of Reproduction**, v.50, p.290-300, 1994.

STAPLES, C.R., THATCHER, W.W., CLARK, J.A. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v73, p.938-947, 1990.

STEWART, R., GOSDEM, R.E., SPICER, L.J., KEEFER, B.E. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3719-3731, 1995.

STOCK, A.E., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, Bethesda, v. 132, p. 1108-1114, 1993.

STRAUCH, T.A., FORBES, T.D.A., ABBEY, C.A., SICKENIUS, S.S., HENSARLING, C.M., RANDEL, R.D., WELSH, JR T.H. Effects of supplementation or dietary additives on somatotrophic axis in male goats consuming *Acacia berlandieri*. **Journal of Animal Science**, v.79 (Supplement 2), p.8(Abstract), 2001.

STRAUCH, T.A., NEUENDORFF, D.A., BROWN, C.G., WADE, M.L., LEWIS, A.W., KEISLER, D.H., RANDEL, R.D. Effects of lasalocid on circulating concentrations of leptin and insulin-like growth factor-I and reproductive performance of postpartum Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1363-1370, 2003.

TALLAM, S.K. Ovarian follicular activity in lactating Holstein cows supplemented with monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3498-3507, 2003.

THOMAS, E.E., POE, S.E., MCGUFFEY, R.K., MOWREY, D.H., ALLRICH, R.D. Effect of feeding monensina to dairy cows on serum metabolites during early lactation. **Journal of Animal Science**, v.76(supplement 1), p.280 (abstract), 1993.

VICINI, J.L., BUONOMO, F.C., VEENHUIZEN, J.J., MILLER, M.A., CLEMMONS, D.R., COLLIER, R.J. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factor I and II, and insulin-like growth binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. **Journal of Nutrition**, v.121, p.1656-1664, 1991.

XU, Z.Z., GARVERICK, H.A., SMITH, G.W., SMITH, M.F., HAMILTON, S.A., YOUNGQUIST, R.S. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicle during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53, p.951-957, 1995.

WEBB, S.M., LEWIS, A.W., NEUENDORFF, D.A., RANDEL R.D. Effects of dietary rice bran, lasalocid, and sex of calf on postpartum reproduction in Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2968-2974, 2001

YELICH, J.V.; WETTEMANN, R.P.; DOLEZAL, H.G.; LUSBY, K.S.; BISHOP, D.K.; SPICER, L.J. Effects of growth rate on carcass composition and lipid partitioning at puberty and growth hormone, insulin-like growth factor I, insulin, and metabolites before puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2390-2405, 1995.

YELICH,J.V., WETTEMANN,R.P.,MARTSON,T.T.,SPICER,L.J. Luteinising hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. **Domestic Animal Endocrinology**, v.13, p.325-338, 1996.

Tabela 1: Níveis de garantia da mistura mineral (Minerthal 90, Minerthal Prod. Agrop. Ltda, São Paulo, Brasil).

Elemento	Quantidade
Cálcio (g)	130
Cobalto (mg)	120
Cobre (mg)	960
Enxofre (g)	15
Ferro (mg)	1400
Flúor máximo (mg)	900
Fósforo (g)	90
Iodo (mg)	63
Magnésio (g)	15
Manganês (mg)	1020
Selênio (mg)	13
Sódio (g)	144
Zinco (mg)	3600
Solub. P Ac. Cítrico 2%	95 %

Tabela 2: Composição dos suplementos experimentais.

	Controle (%) ³	Monensina (%) ⁴
Suplemento mineral ¹	100	25,0
Polpa Cítrica	0	74,75
Rumensin [®] ²	0	0,25
Total	100	100

1 Fórmula Comercial com 90 gramas de fósforo, Minerthal 90 (Minerthal Prod. Agrop. Ltda, São Paulo, Brasil)

2 Rumensin[®] tem 10% de monensina sódica

3 ingestão média de 100g/vaca/dia

4 ingestão média de 450g/vaca/dia

Tabela 3: Médias e erros padrão para ECC aos 54 dias pós-parto, diferença de ECC entre pré-parto e pós-parto, concentrações plasmáticas de AGNE, IGF-1 e diâmetro do maior folículo, referentes a coletas de dados, em média, aos 54 dias pós-parto, e % de ovulação após um estímulo ovulatório (GnRH) de vacas Nelore primíparas e multíparas em anestro.

	Tratamento		Média **
	Controle	Monensina ¹	
ECC 54 dias²			
Primíparas	2,99 ± 0,04	3,10 ± 0,04	3,04 ± 0,04
Multíparas	3,00 ± 0,03	3,11 ± 0,03	3,06 ± 0,03
Média*	3,00 ± 0,02 ^a	3,11 ± 0,03 ^b	
Diferença de ECC			
Primíparas	-0,23 ± 0,05	0,00 ± 0,06	-0,11 ± 0,05
Multíparas	-0,15 ± 0,05	0,00 ± 0,04	-0,07 ± 0,05
Média *	-0,19 ± 0,03 ^a	0,00 ± 0,04 ^b	
AGNE (mmol/l) ³			
Primíparas	969,1 ± 48,1	861,7 ± 52,3	915,4 ± 35,5
Multíparas	1058,6 ± 42,6	906,2 ± 40,1	982,4 ± 29,2
Média *	1013,8 ± 32,2 ^a	883,9 ± 33,0 ^b	
IGF-1 (ng/ml)			
Primíparas	99,6 ± 9,1	137,8 ± 9,8	118,7 ± 6,7 ^A
Multíparas	70,5 ± 8,0	99,2 ± 7,6	84,8 ± 5,5 ^B
Média *	85,1 ± 6,0 ^a	118,5 ± 6,2 ^b	
Diâm. Folicular(mm)			
Primíparas	9,09 ± 0,24	9,52 ± 0,26	9,30 ± 0,17 ^A
Multíparas	10,07 ± 0,21	10,63 ± 0,20	10,35 ± 0,14 ^B
Média ***	9,58 ± 0,20 ^a	10,07 ± 0,16 ^b	
% de ovulação			
Primíparas	22,9	29,6	26,1 ^A
Multíparas	38,1	39,7	39,0 ^B
Média ****	31,5 ^a	35,9 ^b	

* Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem (p<0,01)

** Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem (p<0,01)

*** Médias seguidas de letras minúsculas na linha para diâmetro folicular diferem (p<0,03)

**** Médias seguidas de letras minúsculas na linha para % de ovulação diferem (p<0,02)

¹ Ingestão média de 110mg de monensina sódica por dia

² ECC avaliada segundo Lowman (1976) com escala de 1 (muito magra) a 5 (muito gorda)

³ Ácidos graxos não esterificados

Gráfico 1: Efeito da concentração plasmática de IGF-1 na concentração plasmática de AGNE para vacas Nelore, primíparas e multíparas, pós-parto (média de 54 dias) em anestro, que receberam suplementação com monensina (110mg) e vacas controle que não receberam.

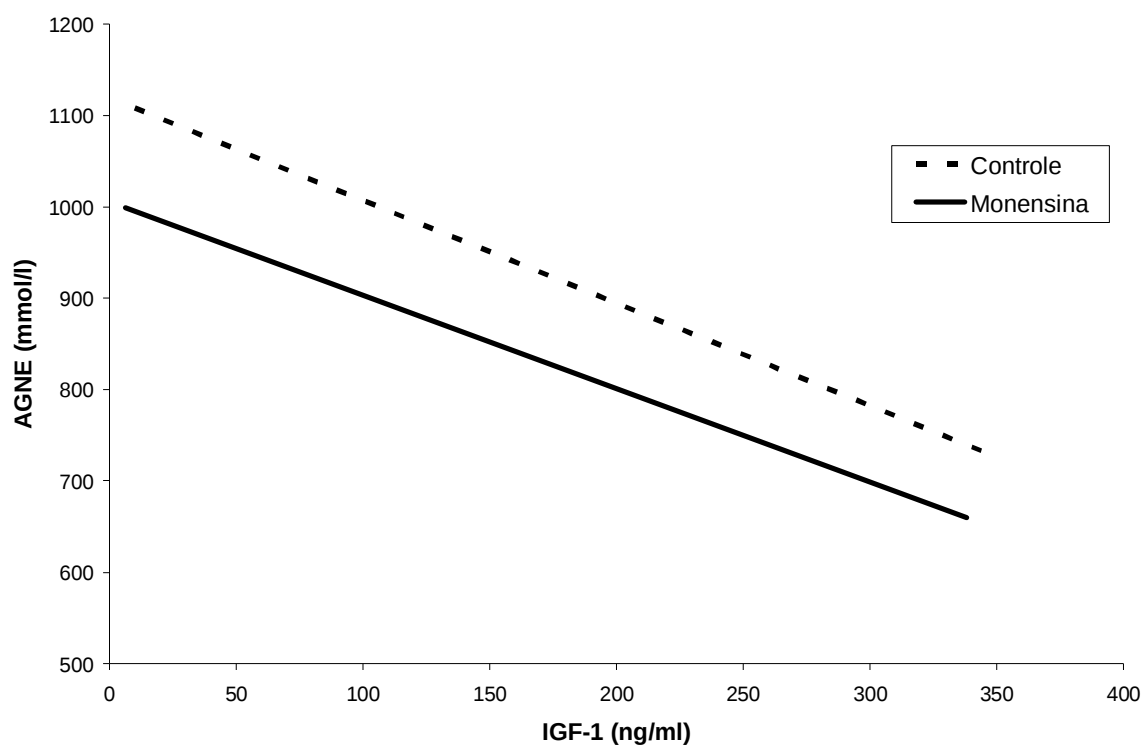


Gráfico 2: Efeito da concentração plasmática de IGF-1 no tamanho do maior folículo para vacas Nelore, primíparas e multíparas, pós-parto (média de 54 dias) em anestro que receberam suplementação com monensina (110mg) e vacas controle que não receberam.

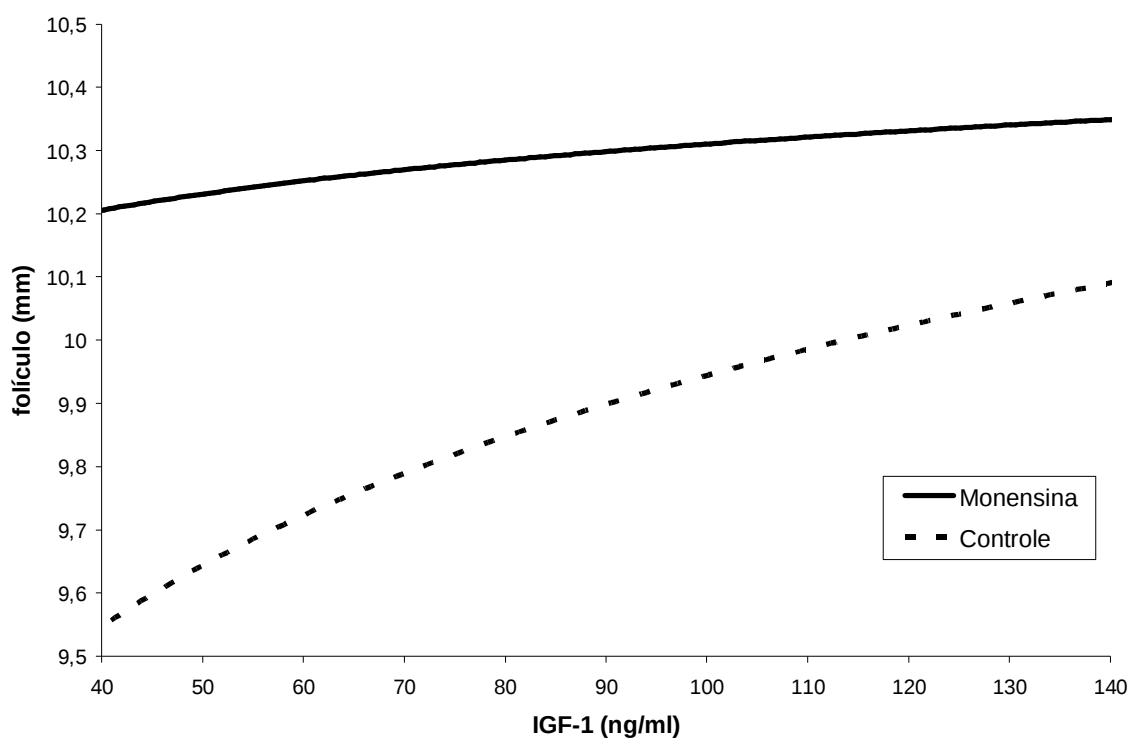


Gráfico 3: Efeito da concentração plasmática de IGF-1 no tamanho do maior folículo para vacas Nelore primíparas e multíparas, pós-parto (média de 54 dias) em anestro, primíparas ou multíparas.

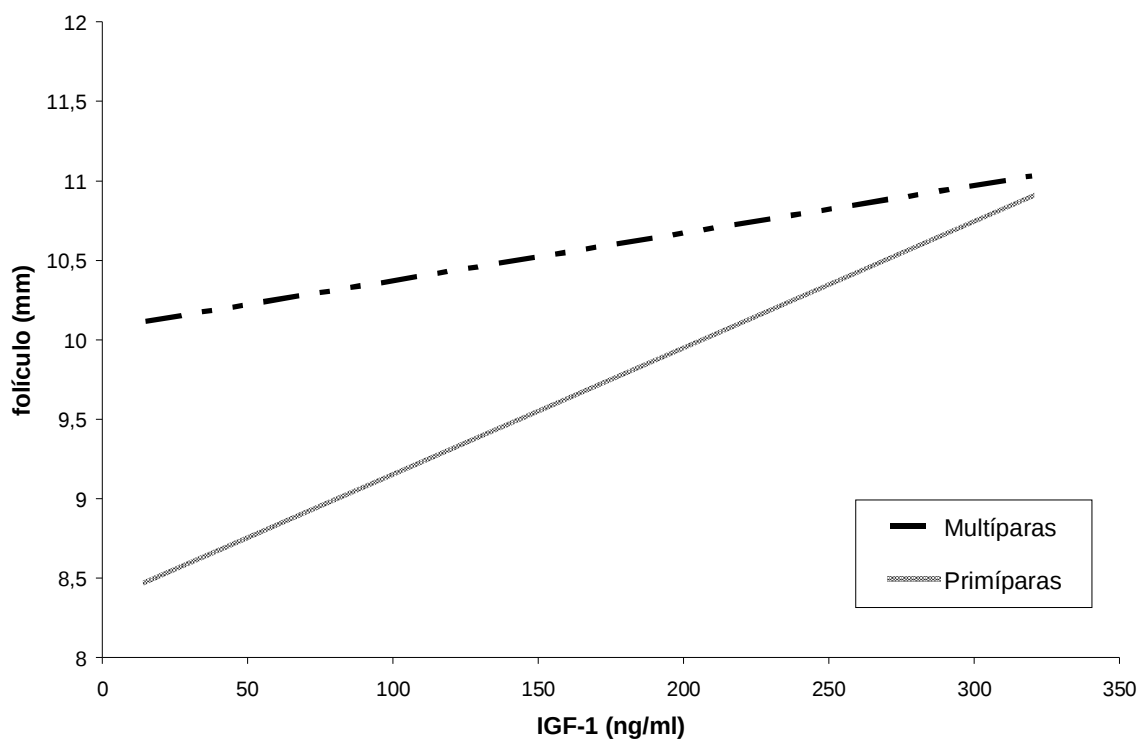


Gráfico 4: Efeito do tamanho do folículo na taxa de ovulação de vacas Nelore primíparas e multíparas, pós-parto (média de 54 dias) em anestro, que receberam estímulo hormonal ovulatório (50 mcg de GnRH (gonadorelina; Cystorelin® (1ml) , Merial Ltd., EUA)).

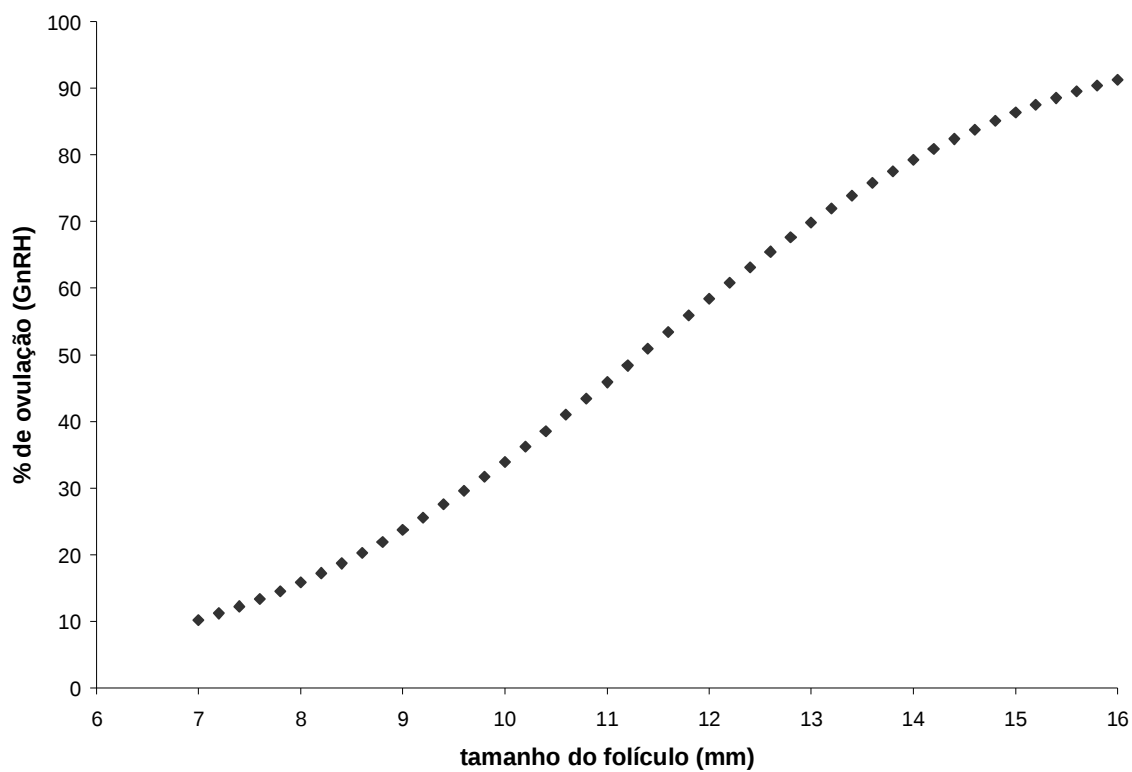
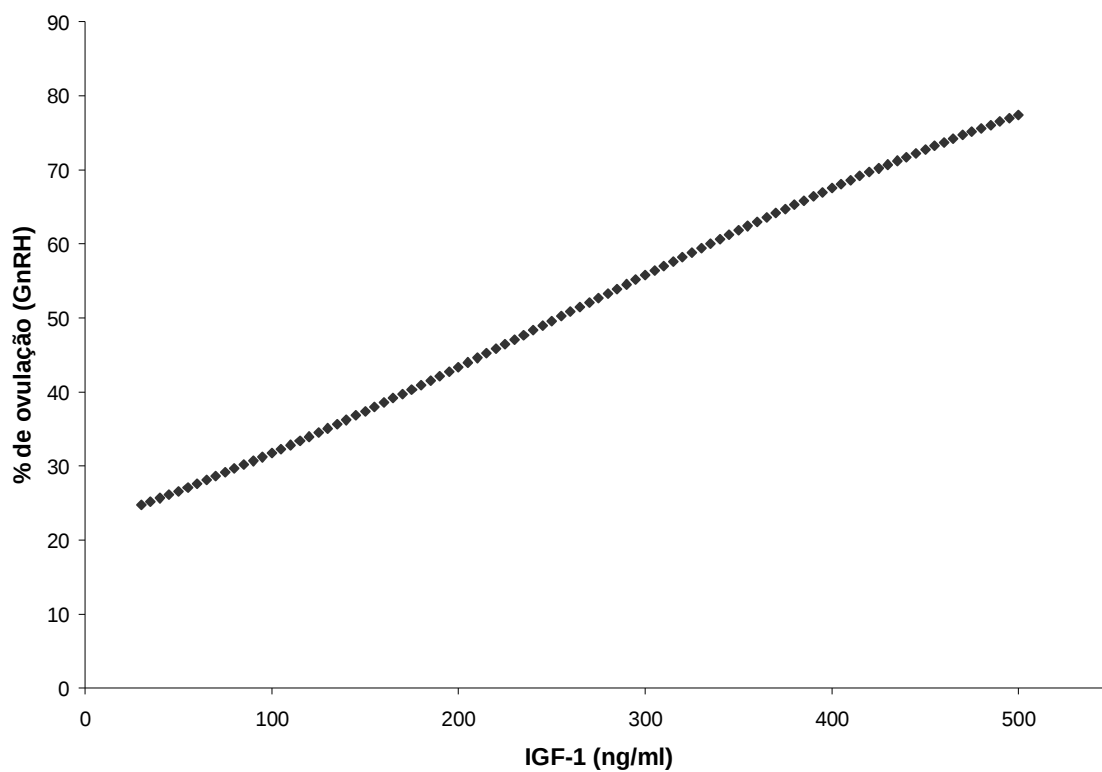


Gráfico 5: Efeito da concentração plasmática de IGF-1 na taxa de ovulação de vacas Nelore primíparas e multíparas, pós-parto (média de 54 dias) em anestro que receberam estímulo hormonal ovulatório (50 mcg de GnRH (gonadorelina; CYSTORELIN® (1ml) , Merial Ltd., EUA)).



IMPLICAÇÕES

A suplementação com monensina em vacas Nelore paridas, em anestro, melhorou o “status” energético, diminuindo o BEN, evidenciado pela manutenção do ECC e pela diminuição da concentração plasmática de AGNE confirmando uma diminuição da mobilização de reservas,. Com o aumento do fluxo de nutrientes para o organismo e diminuição no BEN, a suplementação com monensina aumentou a concentração plasmática de IGF-1 e melhorou o desenvolvimento folicular, aumentando o diâmetro do maior folículo provavelmente através do aumento da pulsatilidade de LH e do aumento da sensibilidade do folículo ao LH através do aumento de seus receptores para LH. Também melhorou a resposta ao estímulo hormonal ovulatório (GnRH), por essa resposta depender diretamente do diâmetro do folículo.

A eficiência reprodutiva de vacas Nelore é muito importante para que a atividade de cria seja sustentável. Suplementação com monensina pode ser uma eficiente ferramenta para aumentar a eficiência reprodutiva, por diminuir a intensidade do BEN, evidenciado pelos sinais metabólicos medidos e pelo aumento do diâmetro folicular.