

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



TESE

Avaliação do perfil hormonal de vacas leiteiras no pós-parto e desenvolvimento de uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada para hormônios

Thais Casarin da Silva

Pelotas, 2022

Thaís Casarin da Silva

Avaliação do perfil hormonal de vacas leiteiras no pós-parto e desenvolvimento de uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada para hormônios

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Marcio Nunes Corrêa

Coorientadora: Josiane de Oliveira Feijó

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S586a Silva, Thais Casarin da

Avaliação do perfil hormonal de vacas leiteiras no pós-parto e desenvolvimento de uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada para hormônios / Thais Casarin da Silva ; Marcio Nunes Corrêa, orientador ; Josiane de Oliveira Feijó, coorientadora. — Pelotas, 2022.

55 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Superovulação. 2. Hidrogel. 3. Produção de leite. 4. Produção de colostro. 5. Bovinos. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Feijó, Josiane de Oliveira, coorient. III. Título.

CDD : 636.208982

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Thais Casarin da Silva

Avaliação do perfil hormonal de vacas leiteiras no pós-parto e desenvolvimento de uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada para hormônios

Tese aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 16 de março de 2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa (Orientador)
Doutor em Ciências / Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin
Doutor em Medicina Veterinária - Reprodução Animal pela Universidade Federal de Santa Maria.

Prof. Dr. Joabel Tonello dos Santos
Doutor em Sanidade e Reprodução Animal pela Universidade Federal de Santa Maria.

Dr. Rubens Alves Pereira
Doutor em Ciências / Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Cássio Cassal Brauner (Suplente)
Doutor em Produção Animal pela Universidade Federal de Pelotas.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, ao meu filho, marido e aos meus pais.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço à Deus, pois, pela sua graça, me concedeu esta oportunidade, de trabalhar com o que amo e concluir com alegria, mais uma etapa da minha vida acadêmica. Por ter me sustentado nos dias difíceis, dando força, coragem e sabedoria para prosseguir. Tudo é para tua Honra e Glória, Senhor. Serei eternamente grata por tudo!

Aos meus pais, Almiro e Cléia, que sempre me incentivaram a estudar e me esforçar, desde pequena, para realizar os meus sonhos. Sem medir esforços para me ajudar a chegar até aqui, sem eles, com certeza isso não teria sido possível. Obrigada por todo amor, paciência e apoio incondicional. Vocês são a minha base, meu porto seguro, devo tudo a vocês.

Ao meu marido, amigo e companheiro Anderson, por sempre me motivar e acreditar no meu potencial. Por se esforçar ao máximo, me auxiliando e incentivando todos os dias, para que eu cumprisse com meus compromissos e por sempre priorizar a minha vida profissional, muitas vezes mais que a sua. Tu és um presente de Deus na minha vida, eu te amo!

Ao amor da minha vida, minha herança de Deus, meu filho Israel, que chegou para dar mais brilho, força e propósito nesta caminhada. Filhote, tu és a minha maior motivação!

Ao meu irmão Gustavo, que me faz rir constantemente e com seu amor, me incentiva a ir mais longe.

Minha sogra Loeci, que sempre esteve presente nesta caminhada, apoiando e encorajando a prosseguir, sempre.

A minha amiga e coorientadora Josiane, por sempre estar disposta a me auxiliar, apoiar, orientar e incentivar em todas as etapas deste processo. Sem dúvidas, foste essencial para que eu tivesse êxito nesta caminhada.

Ao meu amigo e orientador Professor Marcio Nunes Corrêa pela orientação valiosa, compreensão, paciência, confiança, transparência e ensinamentos ao longo destes 9 anos de convivência, trabalho e amizade.

Com certeza, fez toda a diferença para que eu pudesse chegar até aqui, com o coração alegre e realizado.

Aos graduandos (Cristiane, Juliano, Cristian e Diane), pós-graduandos (Natália, Uriel, Camila, Everson e Vinicius) e residentes (Tamires e Luiza), que me auxiliaram, tanto nas etapas *in vitro*, quanto *in vivo* dos experimentos. O apoio e amizade de vocês foram essenciais para conclusão deste trabalho, muito obrigada!

Aos colegas Rubens, Joabel e Bernardo que acompanharam todo o desenvolvimento do projeto, enriquecendo-o, com suas sugestões valiosas.

A todos os colegas do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) que contribuíram de alguma forma, para a minha formação profissional e pessoal.

A toda minha família e amigos que participaram da construção deste trabalho, acreditando, apoiando e torcendo por mim.

Muito obrigada!

Resumo

DA SILVA, Thaís Casarin. **Avaliação do perfil hormonal de vacas leiteiras no pós-parto e desenvolvimento de uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada para hormônios.** 2022. 52f. Tese (Doutora em Ciências) – Programa de Pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Objetivou desenvolver uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada do Hormônio Folículo Estimulante (FSH), para superovulação (SOV) bovina. Foram realizados testes *in vitro* e de aplicabilidade e biodisponibilidade do FSH em vacas leiteiras. A temperatura de geleificação foi de 34°C, com liberação do hormônio por pelo menos 36 horas (dose única) e 48 horas (dose dupla, com intervalo de 24 horas). Conclui-se que o veículo farmacêutico foi capaz de prolongar o tempo de liberação do FSH e possivelmente poderá simplificar os protocolos de SOV, através da redução do número de aplicações. Além disso, objetivou-se determinar a influência dos níveis de Progesterona (P4) e Vitamina D (VitD3) sob o comportamento alimentar de vacas leiteiras no pós-parto recente. Foram utilizadas 41 vacas da raça Holandês, múltiparas, de 2 a 4 lactações. Durante os dias 0 (dia do parto), 1, 2, 3 e 7 pós-parto foram mensuradas variáveis que analisam o comportamento alimentar dos animais, através dos alimentadores (Intergado®) e coleiras inteligentes (Cowmed Assistant®), além das análises sanguíneas, para avaliar os níveis de VitD3, P4, glicose e ácidos graxos livres. A produção de colostro foi registrada até 7 dias pós-parto e a produção de leite foi registrada até 60 dias pós-parto. Os animais foram categorizados em relação aos níveis de VitD3 e P4 no dia 0. Vacas com níveis de VitD3 > 60 ng/mL constituíram o grupo ALTAD3 e abaixo deste valor, o MODERADAD3. Já as vacas com P4 > 0,70 ng/mL foram alocadas no grupo ALTAP4 e abaixo deste valor, no grupo BAIXAP4. Os grupos foram analisados separadamente entre ALTAD3 e MODERADAD3 e entre MENORP4 e MAIORP4. O grupo MENORP4 apresentou maior produção de colostro (30,03 ± 1,08; P=0,03) e leite (44,95 ± 0,40; P=0,02), maior número de visitas aos cochos com consumo (38,17 ± 1,55; P=0,001) e tempo de ruminação (619,87 ± 18,49; P=0,001) em comparação ao grupo MAIORP4. Já o grupo ALTAD3 apresentou menor número de visitas aos cochos com (31,03 ± 1,72; P=0,001) e sem (18,01 ± 1,73; P=0,001) consumo do que os animais do grupo MODERADAD3. Conclui-se que os níveis de VitD3 e P4 no dia do parto, podem ter influência sob o comportamento alimentar de vacas leiteiras, durante a primeira semana pós-parto.

Palavras-chave: superovulação; hidrogel; produção de leite; produção de colostro; bovinos.

Abstract

DA SILVA, Thaís Casarin. **Avaliação do perfil hormonal de vacas leiteiras no pós-parto e desenvolvimento de uma plataforma farmacêutica de liberação prolongada para hormônios.** 2022. 52f. Doctoral dissertation (Doctora of Science) – Postgraduate Program in Veterinary, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

This thesis aimed to develop a pharmaceutical platform for extended release of Follicle Stimulating Hormone (FSH) for bovine superovulation (SOV). In vitro and tests were performed on the applicability and bioavailability of FSH in dairy cows. The gelation temperature was 34°C, with hormone release for at least 36 hours (single dose) and 48 hours (double dose, with an interval of 24 hours). It is concluded that the pharmaceutical vehicle was able to prolong the FSH release time and could possibly simplify SOV protocols, by reducing the number of applications. In addition, the objective was to determine the influence of Progesterone (P4) and Vitamin D3 (VitD3) levels on the feeding behavior of dairy cows in the recent postpartum period. Forty-one Holstein cows, multiparous, from 2 to 4 lactations were used. During days 0 (day of calving), 1, 2, 3 and 7 postpartum, variables that analyze the feeding behavior of the animals were measured, through the feeders (Intergado®) and smart collars (Cowmed Assistant®), in addition to the analyzes blood, to assess the levels of VitD3, P4, glucose and free fatty acids. Colostrum production was recorded up to 7 days postpartum and milk production was recorded up to 60 days postpartum. The animals were categorized in relation to VitD3 and P4 levels on day 0. Cows with VitD3 levels >60ng/mL constituted the ALTAD3 group and below this value, the MODERADAD3. Cows with P4>0.70ng/mL were allocated to the ALTAP4 group and below this value to the BAIXAP4 group. The groups were analyzed separately between ALTAD3 and MODERADAD3 and between MENORP4 and MAIORP4. The MENORP4 group had higher production of colostrum (30.03±1.08; P=0.03) and milk (44.95± 0.40; P=0.02), more visits to troughs with consumption (38.17±1.55; P=0.001) and rumination time (619.87±18.49; P=0.001) compared to the MAIORP4 group. The ALTAD3 group had fewer visits to the troughs with (31.03±1.72; P=0.001) and without (18.01±1.73; P=0.001) consumption than the animals in the MODERADAD3 group. It is concluded that the levels of VitD3 and P4 on the day of calving can influence parameters of feeding behavior during the first postpartum week of dairy cows.

Keywords: superovulation; hydrogel; milk production; colostrum production; cattle.

Lista de Figuras

- Figura 1 Produção de colostro do dia do parto (dia 0) até 7 dias pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês que foram categorizadas em relação ao nível de P4 sanguíneo no dia 0. Os animais que apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 a 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17) 23
- Figura 2 Produção de leite do dia 8 ao 60 pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês que foram categorizadas em relação ao nível de P4 sanguíneo no dia do parto (dia 0). Os animais que apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 a 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17) 24
- Figura 3 Tempo de ruminação (min/dia), no dia do parto (dia 0), 1, 2, 3 e 7 dias pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês que foram categorizadas em relação ao nível de P4 sanguíneo no dia 0. Os animais que apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 e 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17) 24
- Figura 4 Número de visitas aos cochos com e sem consumo no dia do parto (dia 0), 1, 2, 3 e 7 dias pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês, que foram categorizadas em relação ao nível de P4 e VitD3 sanguíneo no dia 0. A e C) Os animais que apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 e 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17); B e D) Os animais que apresentaram níveis de VitD3 >60ng/mL constituíram o grupo ALTAD3 (n=18) e de 35 a 60ng/mL, o grupo MODERADAD3 (n=23) 25
- Figura 5 Produção de leite do dia 8 ao 60 pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês que foram categorizadas em relação ao nível de VitD3 sanguíneo no dia do parto (dia 0). Os animais que apresentaram níveis de VitD3 >60ng/mL constituíram o grupo ALTAD3 (n=18) e de 35 a 60ng/mL, o grupo MODERADAD3 (n=23) 26

Lista de Tabelas

Tabela 1	Porcentagem dos ingredientes da dieta (%) de vacas leiteiras da raça Holandês durante pós-parto.	21
Tabela 2	Análise de variância: Médias e \pm (erro médio padrão) dos níveis de vitamina D3, progesterona, produção de colostro, leite, glicose, AGL e variáveis comportamento alimentar	27
Tabela 3	Análise de Correlações de Pearson entre as variáveis: consumo de alimento (kg/dia), visitas com e sem consumo (nº/dia), tempo de ruminação, atividade e ócio (min/dia), níveis de AGL (mmol/L), glicose (mg/dL), VitD3 (ng/mL) e P4 (ng/mL) e produção de colostro (L), dentro de cada grupo (MAIORP4, MENORP4, ALTAD3 e MODERADAD3), em relação aos níveis de P4 e VitD3	28

Lista de Abreviaturas

AGL	Ácidos graxos livres
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
BEN	Balanço energético negativo
ECC	Escore de condição corporal
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
HPA	Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal
PIV	Produção de embriões in vitro
P4	Progesterona
SOV	Superovulação
TE	Transferência de embriões
TMR	Ração totalmente misturada
VDR	Receptor de VitD3
VitD3	25-hidroxivitamina D/25(OH)D

Sumário

1 Introdução.....	12
1.2 Objetivo.....	15
1.2.1 Objetivos Específicos.....	15
2 Artigo	16
Resumo.....	17
Abstract.....	18
Introdução.....	19
Materiais e Método.....	20
Animais e manejo.....	20
Categorização dos animais.....	21
Avaliação do consumo e comportamento alimentar.....	22
Coletas e análises.....	22
Análise Estatística.....	23
Resultados.....	23
Discussão.....	29
Conclusão.....	31
Referências Bibliográficas.....	31
3 Patente.....	36
RESUMO.....	37
CAMPO DA INVENÇÃO.....	37
ANTECEDENTES DA INVENÇÃO.....	38
BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS.....	39
DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO.....	40
DESENHOS.....	44
REIVINDICAÇÕES.....	48
4 Considerações Finais.....	49
Referências Bibliográficas.....	50
Anexos.....	53

1 Introdução

Durante a primeira semana pós-parto, a vaca leiteira passa por diversas alterações endócrinas e hormonais que afetam seu comportamento alimentar e social. Ocorre alta demanda de glicose (Bicalho *et al.*, 2017) e micronutrientes, como a 25-hidroxivitamina D/25(OH)D (VitD3) (Horst, 2003) e queda súbita de Progesterona (P4) (Villa-Godoy, A *et al.*, 1988). Geralmente ocorre redução dos níveis de glicose sanguínea devido à resistência à insulina nos tecidos periféricos, com intuito de potencializar a produção de leite através do redirecionamento da glicose à glândula mamária.

Em humanos, o metabolismo da insulina e glicose pode ser influenciado pelos níveis de VitD3 (Chiu *et al.*, 2004). Acredita-se que a VitD3 tem relação inversa com resistência à insulina (Nyomba *et al.*, 1984) e a sua deficiência pode causar intolerância à glicose e é um fator de risco para o desenvolvimento de diabetes tipo1 (Holick, 2002). Além disso, altas concentrações da VitD3 podem evitar o desenvolvimento da diabetes tipo 2 (Alvarez, Jessica A. e Ashraf, Ambika, 2010). Portanto, em bovinos, é relevante manter os níveis de VitD3 adequados, principalmente durante a primeira semana pós-parto, para que o metabolismo da glicose não seja prejudicado, nem mesmo o do cálcio e fósforo, já que essa vitamina também é essencial para a homeostase destes minerais (Nelson *et al.*, 2016).

Além da resistência à insulina, a vaca leiteira também mobiliza triglicerídeos (TAG), armazenados no tecido adiposo, para formação de glicerol e ácidos graxos livres (AGL), com intuito de manter o equilíbrio energético e a produção de leite (Weschenfelder, 2013). Entretanto, a mobilização exacerbada do tecido adiposo é prejudicial ao organismo, resultando na formação demasiada de corpos cetônicos (CC), que podem afetar negativamente a produção de leite, IMS (Adewuyi *et al.*, 2005) e a eficiência reprodutiva (Butler *et al.*, 1981).

Em relação à eficiência reprodutiva, normalmente, os níveis plasmáticos de P4, no pós-parto imediato, sofrem uma queda brusca e voltam a aumentar durante os primeiros dois ou três ciclos ovulatórios pós-parto (Butler, W., 2003). Porém, segundo Villa-Godoy, A *et al.* (1988), vacas que passaram por um balanço energético negativo (BEN) durante os primeiros 9 dias pós-parto, tem diminuição das concentrações de P4 no sangue durante o terceiro ciclo estral, ou seja, no início do período reprodutivo.

Ainda, acredita-se que os níveis de P4 podem ser influenciados pela VitD3. No trabalho *in vitro* de Merhi *et al.* (2014), foi relatado que o tratamento com VitD3 em células da granulosa humana, aumentou a produção de P4 na presença do substrato alopregnanolona. De forma semelhante, a VitD3 aumentou os níveis de P4 em células ovarianas humanas (Parikh *et al.*, 2010). Ainda, estudos em animais, demonstraram que a VitD3 é essencial para síntese de estrogênio em fêmeas e machos através da regulação direta da expressão do gene da aromatase, bem como através de uma ação mediada pela manutenção das concentrações de cálcio (Wojtusik *et al.*, 2012; Anagnostis *et al.*, 2013). Contudo, fica clara a importância de manter a nutrição dos animais adequada, principalmente durante o pós-parto, já que alterações nos níveis de VitD3, podem influenciar a saúde, produção e eficiência reprodutiva dos animais (EDER, GRUNDMANN, 2022).

Além do cuidado com a dieta, a eficiência reprodutiva do rebanho pode ser aprimorada através da utilização de biotécnicas aplicadas a reprodução, como: a técnica de SOV utilizada em programas de transferência de embriões (TE) ou produção de embriões *in vitro* (PIV). A técnica de SOV é amplamente utilizada para estimular o crescimento e maturação de um maior número de folículos antrais, através da administração de gonadotrofinas, que resultará em múltiplas ovulações, possibilitando a formação de um maior número de embriões transferíveis (Naranjo Chacón *et al.*, 2020) ou no caso da PIV, através da punção folicular, obter maior número de oócitos coletados.

Atualmente, a gonadotrofina padrão utilizada mundialmente em bovinos é o Hormônio Folículo Estimulante (FSH) extraído da pituitária suína (Naranjo Chacón *et al.*, 2020; KELLY *et al.*, 1966). Uma glicoproteína, com meia-vida muito curta, de aproximadamente 5 horas, necessitando sua administração via intramuscular de 12 em 12 horas em doses decrescentes, por 4 dias. Um dos

fármacos mais utilizados atualmente no Brasil, é o Folltropin-V® (Vetoquinol) (Kimura *et al.*, 2007; Bó e Mapletoft, 2014).

Uma das alternativas para minimizar estes entraves e simplificar os protocolos é a utilização de veículos projetados para prolongar a absorção do princípio ativo, ou seja, do FSH, como matrizes poliméricas biodegradáveis de liberação lenta (Villanova *et al.*, 2010). Como é o caso dos polímeros da classe de polaxâmeros caracterizados pela fácil preparação e propriedades de geleificação reversível, ótimos para liberação controlada de fármacos (Fakhari *et al.*, 2017).

Atualmente, o mercado necessita de um produto que estimule a SOV através do FSH, entretanto, sem a necessidade de múltiplas aplicações. Com isso, neste estudo, será apresentada uma patente de um novo produto para liberação prolongada de FSH que sugere a SOV bovina com apenas duas doses, em intervalo de 24h. E, além disso, um artigo que relaciona os níveis de P4, VitD3 e o comportamento alimentar de vacas leiteiras durante a primeira semana pós-parto.

1.2 Objetivo

Desenvolver uma nova formulação farmacêutica de liberação prolongada de FSH e determinar a influência da VitD3 e P4 sob o comportamento alimentar, em vacas leiteiras durante a primeira semana pós-parto.

1.2.1 Objetivos específicos:

- Desenvolver uma nova matriz polimérica injetável atóxica para a administração sustentada de FSH;
- Realizar estudos *in vitro* e *in vivo* da nova formulação;
- Analisar se os níveis de P4 e VitD3 interferem no comportamento alimentar de bovinos leiteiros, durante a primeira semana pós-parto;
- Analisar se os níveis de P4 e VitD3, durante a primeira semana pós-parto, interferem na produção de colostro e leite de bovinos leiteiros.

2 Artigo

2.1 Artigo 1 Avaliação dos níveis de Vitamina D3 e Progesterona sob o comportamento alimentar de vacas leiteiras no pós-parto recente

Aceito para publicação na revista: Brazilian Journal of Development

Thais Casarin da Silva^{ab}, Uriel Secco Londero^{ac}; Cássio Cassal Brauner^{ad},
Josiane de Oliveira Feijó^{ae}, Francisco Augusto Burkert Del Pino^{af}, Marcio Nunes
Corrêa^{ag}.

^aNúcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Departamento de Clínicas Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, CEP: 96010-900, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil;

^b thais.casarindasilva@gmail.com

^c uriel_londero@hotmail.com

^d cassiocb@gmail.com

^e josianeofeijo@gmail.com

^f fabdelpino@gmail.com

^g marcio.nunescorrea@gmail.com

1 Avaliação dos níveis de Vitamina D3 e Progesterona sob o comportamento
2 alimentar de vacas leiteiras no pós-parto recente

3
4 Evaluation of Vitamin D3 and Progesterone levels under the feeding behavior of
5 dairy cows in the recent postpartum period

6
7 **Resumo**

8 O objetivo deste estudo foi investigar a influência da 25-hidroxivitamina D (VitD3) e
9 Progesterona (P4) plasmática sob o comportamento alimentar de vacas leiteiras durante a
10 primeira semana pós-parto. Foram utilizadas 41 vacas da raça Holandês, múltíparas, ECC de
11 3,0 a 3,5, de 2 a 4 lactações. Durante os dias 0 (dia do parto), 1, 2, 3 e 7 pós-parto foram
12 mensurados o consumo, tempo de consumo, número de visitas ao cocho com e sem consumo,
13 através dos alimentadores automáticos (Intergado®) e o tempo de ruminação, atividade e ócio
14 a partir das coleiras inteligentes do tipo “C-TECH” (Cowmed Assistant®). Além disso, foram
15 realizadas coletas sanguíneas nos mesmos dias para análise de VitD3, P4, glicose e ácidos
16 graxos livres. A produção de colostro foi registrada até 7 dias pós-parto e a produção de leite
17 foi registrada até 60 dias pós-parto através do software (DELPRO® Windows, DeLaval, MG,
18 Brasil). No dia 0, os animais foram categorizados a partir dos níveis de VitD3, sendo que os
19 animais que apresentaram níveis de VitD3 > 60ng/mL, foram alocados no grupo ALTAD3
20 (n=18), abaixo deste valor, foram direcionadas para o grupo MODERADAD3 (35 e 60ng/mL;
21 n= 23). Os mesmos animais também foram categorizados em relação aos níveis de P4, sendo
22 os que apresentaram concentrações de P4 > 0,70ng/mL foram alocados no grupo MAIORP4
23 (n=24) e abaixo deste valor (0,20 e 0,70ng/mL; n=17), no grupo MENORP4. Os grupos foram
24 analisados separadamente entre ALTAD3 e MODERADAD3 e entre MENORP4 e
25 MAIORP4. O grupo MENORP4 apresentou maior produção de colostro ($30,03 \pm 1,08$; P =
26 $0,03$) e leite ($44,95 \pm 0,40$; P = $0,02$), maior número de visitas aos cochos com consumo
27 ($38,17 \pm 1,55$; P = $0,001$) e tempo de ruminação ($619,87 \pm 18,49$; P = $0,001$) em comparação
28 ao grupo MAIORP4. Além disso, o grupo ALTAD3 apresentou menor número de visitas aos
29 cochos com ($31,03 \pm 1,72$; P = $0,001$) e sem ($18,01 \pm 1,73$; P = $0,001$) consumo do que os
30 animais do grupo MODERADAD3. Houve correlação negativa entre os níveis de P4 e o
31 tempo de ruminação nos grupos MENORP4 (r = $-0,71$; P = $0,01$), ALTAD3 (r = $-0,55$; P =
32 $0,03$) e MODERADAD3 (r = $-0,38$; P = $0,01$). A partir deste estudo, foi possível concluir, que
33 os animais do grupo MENORP4 apresentaram maior produção de colostro e leite, número de
34 visitas aos cochos com consumo e tempo de ruminação do que vacas do grupo MAIORP4. Já
35 os animais do grupo ALTAD3 apresentaram menor número de visitas aos cochos com e sem

36 consumo do que os animais do grupo MODERADAD3. Analisar os níveis P4 e VitD3, no dia
37 do parto de vacas leiteiras, pode auxiliar no aperfeiçoamento do manejo das propriedades,
38 pois, podem ter influência sob o comportamento alimentar e produção dos animais.

39

40 **Palavras-chave:** pós-parto, hormônios, produção de colostro, produção de leite, coleiras
41 automáticas, alimentadores automáticos.

42

43 **Abstract**

44 The aim of this study was to investigate the influence between plasma progesterone (P4) and
45 25-hydroxyvitamin D (VitD3) on the feeding behavior of dairy cows during the first
46 postpartum week. Forty-one Holstein cows, multiparous, ECC from 3.0 to 3.5, from 2 to 4
47 lactations were used. During days 0 (day of calving), 1, 2, 3 and 7 postpartum, consumption,
48 consumption time, number of visits to the trough with and without consumption were
49 measured through the feeders (Intergado®) and rumination, activity and leisure time from
50 smart collars of the “C-TECH” type (Cowmed Assistant®). In addition, blood samples were
51 collected on the same days for analysis of VitD3, P4, glucose and free fatty acids. Colostrum
52 production was recorded up to 7 days postpartum and milk production was recorded up to 60
53 days postpartum using the software (DELPRO® Windows, DeLaval, MG, Brazil). On day 0,
54 the animals were categorized based on their VitD3 levels, and the animals that had VitD3
55 levels > 60ng/mL were allocated to the ALTAD3 group (n=18), below this value, they were
56 assigned to the MODERADAD3 group. (35 and 60ng/mL; n=23). The same animals were
57 also categorized in relation to P4 levels, and those with P4 concentrations > 0.70ng/mL were
58 allocated to the MAIORP4 group (n=24) and below this value (0.20 and 0.70ng/mL; n=17), in
59 the MENORP4 group. The groups were analyzed separately between ALTAD3 and
60 MODERADAD3 and between MENORP4 and MAIORP4. The MENORP4 group had higher
61 production of colostrum (30.03 ± 1.08 ; $P = 0.03$) and milk (44.95 ± 0.40 ; $P = 0.02$), greater
62 number of visits to troughs with Consumption (38.17 ± 1.55 ; $P = 0.001$) and rumination time
63 (619.87 ± 18.49 ; $P = 0.001$) compared to the MAIORP4 group. In addition, the ALTAD3
64 group had fewer visits to the troughs with (31.03 ± 1.72 ; $P = 0.001$) and without ($18.01 \pm$
65 1.73 ; $P = 0.001$) consumption than the animals in the MODERADAD3 group. There was a
66 negative correlation between P4 levels and rumination time in the MENORP4 ($r = -0.71$; $P =$
67 0.01), ALTAD3 ($r = -0.55$; $P = 0.03$) and MODERATED3 ($r = -0.38$; $P = 0.01$). From this
68 study, it was possible to conclude that the animals of the MENORP4 group had higher

69 colostrum and milk production, number of visits to the troughs with consumption and
70 rumination time than cows of the MAIORP4 group. On the other hand, the animals in the
71 ALTAD3 group had a lower number of visits to the troughs with and without consumption
72 than the animals in the MODERADAD3 group. Analyzing the P4 and VitD3 levels on the day
73 of calving of dairy cows can help improve the management of the properties, as they can
74 influence the feeding behavior and production of the animals.

75

76 **Keywords:** postpartum, hormones, colostrum production, milk production,
77 automatic neck collar, automatic feeder.

78 **Introdução**

79 A vaca leiteira, durante a primeira semana pós-parto, não ingere a quantidade de
80 alimento necessário para suprir a sua alta demanda de energia, podendo entrar em balanço
81 energético negativo (BEN) (Coppock et al., 1974) e ocorrer queda nos níveis de importantes
82 metabolitos, como a glicose, insulina e VitD3, que são indispensáveis para a saúde e produção
83 dos animais (Horst et al., 2003; de Koster e Opsomer, 2013). Neste período, normalmente,
84 ocorrem mudanças de dieta e lote (Johnson e Vanjonack, 1976), desmame do bezerro
85 (Johnsen et al., 2015) e redução drástica dos níveis de P4 oriundos da placenta (Villa-Godoy
86 et al., 1988), que geram estresse aos animais (Lucy, 2019).

87 O comportamento alimentar de vacas leiteiras, pode ser afetado pelo eixo hipotálamo-
88 pituitária-adrenal (HPA) que é ativado pelo estresse, principalmente no início da lactação,
89 aumentando a síntese de cortisol (Digiacomio et al., 2018). Acredita-se, que também ocorra
90 maior liberação de P4 pelo córtex adrenal, neste período (Yoshida; Nakao, 2005), para
91 suprimir as respostas do eixo HPA ao estresse (Biggio et al., 2014), minimizando as
92 alterações metabólicas que desestabilizam o organismo (Lucy, 2019; O’driscoll et al., 2006).
93 O comportamento alimentar geralmente, é expresso pelo tempo gasto com consumo,
94 ruminação, atividade e ócio. Esses parâmetros são utilizados para detecção precoce de
95 distúrbios clínicos e subclínicos que interfere na saúde e produção dos animais, resultando em
96 prejuízos econômicos ao produtor (Stivanin et al., 2021).

97 No pós-parto recente, o comportamento alimentar e o metabolismo de vacas leiteiras,
98 podem ser afetados por diferentes hormônios. A VitD3 é essencial para manter a homeostase
99 do cálcio, fósforo, produção de leite, além de potencializar o sistema imune (Eder e
100 Grundmann, 2022). Assim como a P4 esta ligada à eficiência reprodutiva (Kim et al., 2020) e

101 defesa imunológica uterina pós-parto (Cui et al., 2020). Entretanto, sabe-se que a ação destes
102 hormônios é complexa e interfere em todo metabolismo animal. Segundo Monastra et al.,
103 (2018), a P4 e a forma ativa da VitD3 possuem funções e estruturas semelhantes e alguns
104 trabalhos sugerem, que um hormônio pode influenciar nos níveis do outro (Parikh et al.,
105 2010a; Merhi et al., 2014; Monastra et al., 2018). Em bovinos, pouco se sabe sobre a relação
106 entre esses dois hormônios e a influência deles no comportamento alimentar. Com isso, o
107 objetivo deste estudo, foi investigar a influência da VitD3 e P4 sob o comportamento
108 alimentar, em vacas leiteiras durante a primeira semana pós-parto.

109 **Material e Métodos**

110 **Animais e Manejo**

111 Todos os procedimentos realizados neste estudo, foram aprovados pelo Comitê de
112 Ética em Experimento Animal da Universidade Federal de Pelotas (55083-2019). O
113 experimento aconteceu entre junho e outubro de 2020, em uma fazenda leiteira do sul do Rio
114 Grande do Sul, Brasil (-32.24467, -52.49268). Foram utilizadas 41 vacas da raça Holandês,
115 com ECC entre 3,0 a 3,5, multíparas, de duas a quatro lactações, confinadas em um Sistema
116 *Compost Barn*. As vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia às 09:00 e 19:00 horas, tendo
117 água e ração totalmente misturada (TMR) à vontade (Tabela 1). A dieta foi formulada para
118 atender às necessidades nutricionais de vacas da raça Holandês no pós-parto recente (NRC,
119 2001).

120 Tabela 1: Porcentagem dos ingredientes da dieta (%) de vacas leiteiras da raça Holandês durante pós-parto.

121

Ingredientes, matéria verde	Kg/animal/dia
Concentrado	14,00
Silagem de milho	37,00
Pré-secado de azevém	4,00
Água	2,00
Total	57,00
Nutrientes, matéria seca (MS)	Porcentagem (%)
Matéria seca %	49,12
Proteína ajustada %	16,36
Proteína bruta dietética (PB) % MS	31,45
Proteína degradável % de MS	66,29
Proteína não degradável % de MS	33,71
Histidina g/kg	2,39
Metionina g/kg	2,50
Lisina g/kg	6,90
Fenilalanina g/kg	4,62
Aminoácidos g/kg	55,03
Nutrientes digestíveis totais %	73,48
Fibra de detergente ácido %	19,45
Fibra de detergente neutro %	36,20
Vitaminas (MS)	
Vitamina D ₂	1,20 IU/g
Vitamina A	4,80 IU/g
Vitamina E	30,19 IU/kg

122 **Categorização dos animais**

123 Os animais foram acompanhados do dia do parto (dia 0) até sete dias pós-parto, sendo
 124 categorizados em relação aos níveis de VitD3 e P4 no dia 0. Em relação aos níveis de VitD3
 125 os animais foram divididos em 2 grupos: ALTAD3 (n= 18), vacas com níveis de VitD3 >
 126 60ng/mL e MODERADAD3 (n= 23), com níveis entre 35 e 60ng/mL. Segundo o NRC,
 127 (2001), recomenda-se que vacas leiteiras mantenham os níveis sanguíneos entre 20 e
 128 50ng/mL. Portanto, neste estudo, os níveis de VitD3 foram considerados altos > 60ng/mL.

129 Já em relação aos níveis de P4, os mesmos animais foram divididos em 2 grupos:
 130 MAIORP4 (n= 24), níveis de P4 > 0,70ng/mL e MENORP4 (n= 17), níveis

131 entre 0,20 e 0,70ng/mL. Foram considerados os resultados do trabalho de Smith et al. (1973),
132 no qual a média do nível fisiológico das vacas era 0,60ng/ml de P4 do dia do parto até nove
133 dias pós-parto.

134 Os grupos foram analisados separadamente, entre ALTAD3 e MODERADAD3;
135 MENORP4 e MAIORP4.

136 **Avaliação do consumo e comportamento alimentar**

137 Durante os primeiros sete dias pós-parto, por um período de 24 horas, de forma
138 automática e individualizada, a quantidade de consumo, tempo de consumo (min/dia), visitas
139 ao cocho com e sem consumo (nº/dia) foram mensurados pela utilização de alimentadores
140 automáticos (Intergado®). E o tempo de ruminação, atividade e ócio (min/dia), foram
141 coletados através da utilização de coleiras inteligentes do tipo “C-TECH” (Cowmed
142 Assistant®).

143 **Coletas e análises**

144 A produção de colostro foi registrada durante os primeiros 7 dias pós-parto e a
145 produção de leite do dia 8 até 60 dias após o parto através do software (DELPRO® Windows,
146 DeLaval, MG, Brasil). As coletas de sangue foram realizadas no dia do parto (dia 0) e nos
147 dias 1, 2, 3, e 7 após o parto através de punção da veia coccígea, utilizando sistema
148 *Vacutainer* (BD *diagnostics*, SP, Brasil), sempre pela manhã, logo após a ordenha. As
149 amostras de sangue foram coletadas em dois tubos: um com fluoreto de sódio (4mL
150 *Vacuplast*® - Zhejiang, China) para obtenção de plasma para avaliar os níveis de glicose; e
151 outro com sílica (ativador de coágulo) (10mL *Vacuplast*® - Shandong, China) para obtenção
152 do soro para avaliar P4, ácidos graxos livres (AGL) e VitD3 (somente essa não teve a avaliação
153 no dia 7).

154 Logo após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 1800 x g, durante 15 minutos. O
155 soro foi transferido para tubos de eppendorf, identificados e armazenados a -20°C até a
156 realização das análises. A análise de glicose foi realizada através dos reagentes da Labtest
157 (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil) e de AGL através dos reagentes da Randox (Randox
158 Brasil LTDA®, Brasil) com auxílio de um analisador bioquímico automático Labmax Pleno
159 (Labtest®, MG, Brasil). As análises de P4 e VitD3 foram realizadas pelo laboratório Pasin -
160 Análises Clínicas, de Santa Maria, RS, utilizando a metodologia quimiluminescência *Cobas*
161 *Modular Analytics* E17.

162 Análise estatística

163 Todos os dados foram analisados no programa estatístico JMP 14 (SAS Institute Inc.,
 164 Cary, EUA, 2016), utilizando PROC MIXED, para avaliar grupo, dia e a interação entre eles,
 165 pelo método ANOVA com avaliação pós-hoc de Tukey-Kramer ($P < 0,05$), sendo que a
 166 estrutura de covariância utilizada foi a que obteve menor valor no critério de informação
 167 Bayesiano. Todas as variáveis foram analisadas quanto sua normalidade utilizando o método
 168 Shapiro-Wilk e apresentaram distribuição normal. Também foi feita análise de Correlações de
 169 Pearson entre as variáveis P4, VitD3, colostro, consumo, tempo de consumo, tempo de
 170 ruminção, visitas aos cochos com e sem consumo, atividade, ócio, glicose e AGL. Foram
 171 considerados significativos os valores de $P < 0,05$.

172

173 Resultados

174 Observou-se que no grupo MENORP4 as médias de produção de colostro ($30,03 \pm$
 175 $1,08$; Figura 1) e leite ($44,95 \pm 0,40$; Figura 2), tempo de ruminção ($619,87 \pm 18,49$; Figura
 176 3) e número de visitas aos cochos com consumo ($38,17 \pm 1,55$; Figura 4), foram maiores ($P =$
 177 $0,03$; $P = 0,001$; $P = 0,001$; $P = 0,001$ respectivamente) do que os animais do grupo
 178 MAIORP4. As demais variáveis: consumo, tempo de consumo, número de visitas aos cochos
 179 sem consumo, tempo de ócio e atividade, níveis de P4, VitD3, glicose e AGL não
 180 apresentaram diferença significativa entre estes grupos (Tabela 2).

181

182

183

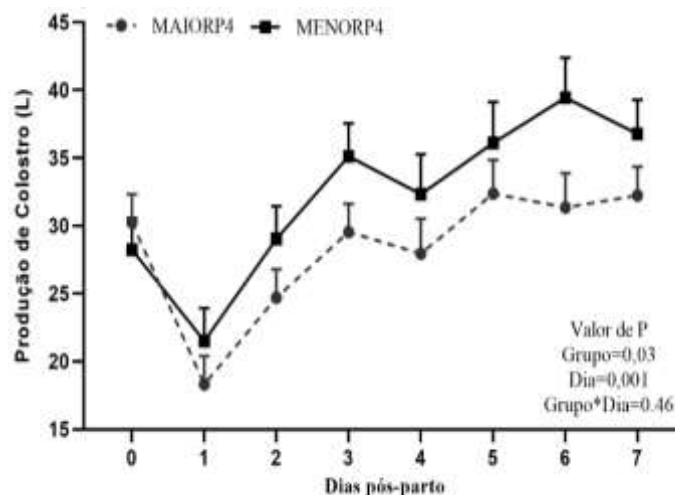
184

185

186

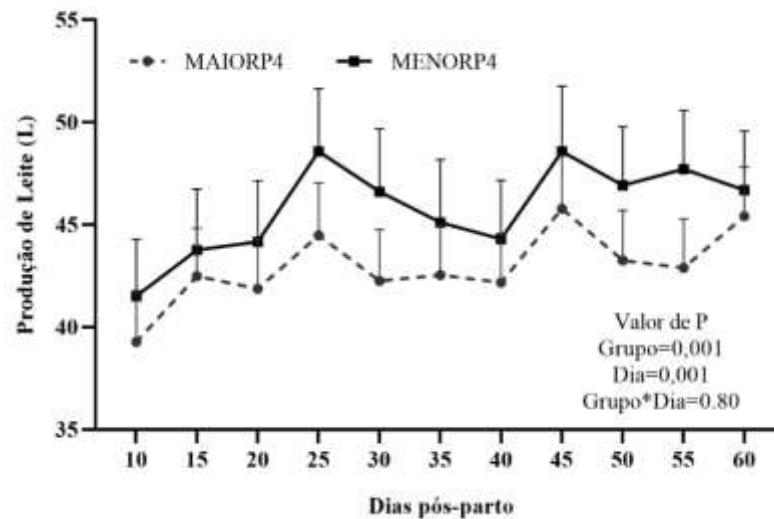
187

188



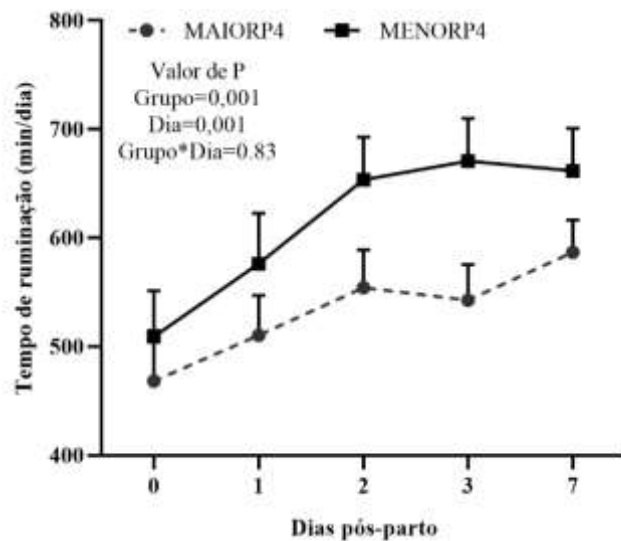
189 Figura 1: Produção de colostro do dia do parto (dia 0) até 7 dias pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês
 190 que foram categorizadas em relação ao nível de P4 sanguíneo no dia 0. Os animais que apresentaram níveis de
 191 $P4 > 0,70 \text{ ng/mL}$ constituiram o grupo MAIORP4 ($n=24$) e entre $0,20$ a $0,70 \text{ ng/mL}$, o grupo MENORP4 ($n=17$)

192



193

194 Figura 2: Produção de leite do dia 8 a 60 pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês que foram categorizadas
 195 em relação ao nível de P4 sanguíneo no dia do parto (dia 0). Os animais que apresentaram níveis de P4
 196 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 a 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17).
 197



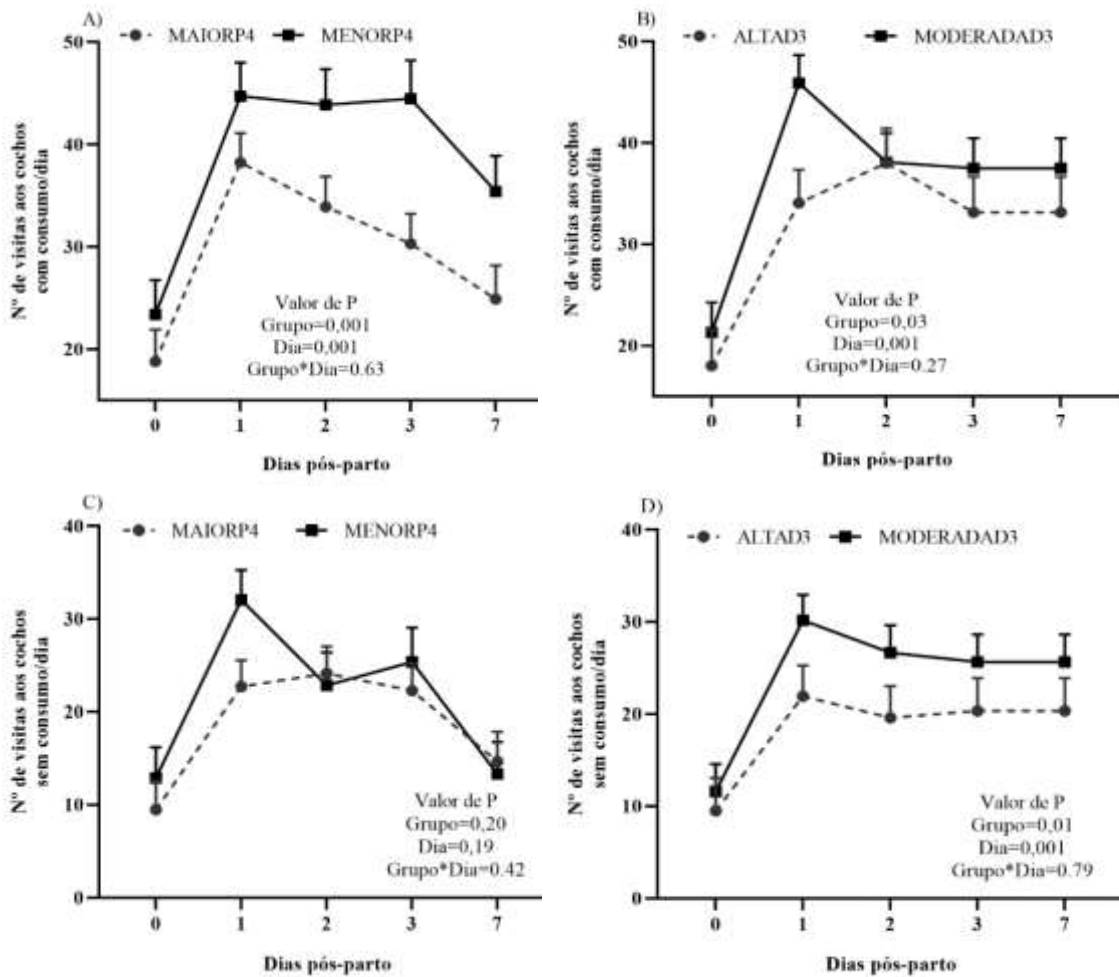
198

199 Figura 3: Tempo de ruminação (min/dia), no dia do parto (dia 0), 1, 2, 3 e 7 dias pós-parto de vacas leiteiras da
 200 raça Holandês que foram categorizadas em relação ao nível de P4 sanguíneo no dia 0. Os animais que
 201 apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 e 0,70ng/mL, o
 202 grupo MENORP4 (n=17);
 203

204

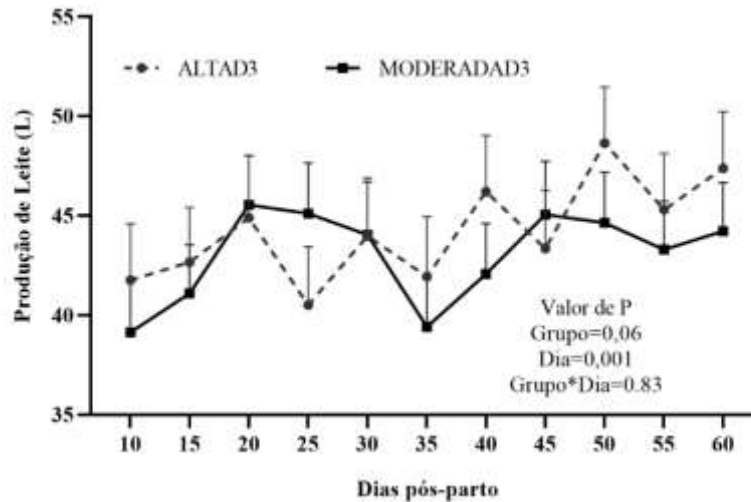
205 Também se observou que no grupo MODERADAD3 a média do número de visitas
 206 aos cochos com (36,09 ± 1,44) e sem consumo (23,75 ± 1,46) foram maiores (P = 0,03; P =
 207 0,01 respectivamente) em relação ao grupo ALTAD3 (Figura 4). As demais variáveis não
 apresentaram diferença significativa (Figura 5; Tabela 2).

208



209 Figura 4: Número de visitas aos cochos com e sem consumo no dia do parto (dia 0), 1, 2, 3 e 7 dias pós-parto de
 210 vacas leiteiras da raça Holandês, que foram categorizadas em relação ao nível de P4 e VitD3 sanguíneo no dia 0.
 211 A e C) Os animais que apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre
 212 0,20 e 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17); B e D) Os animais que apresentaram níveis de VitD3 >60ng/mL
 213 constituíram o grupo ALTAD3 (n=18) e de 35 a 60ng/mL, o grupo MODERADAD3 (n=23).

214



215

216 Figura 5: Produção de leite do dia 8 ao 60 pós-parto de vacas leiteiras da raça Holandês que foram categorizadas
 217 em relação ao nível de VitD3 sanguíneo no dia do parto (dia 0). Os animais que apresentaram níveis de VitD3
 218 >60ng/mL constituíram o grupo ALTAD3 (n=18) e de 35 a 60ng/mL, o grupo MODERADAD3 (n=23).

219

220 Na tabela 3, é possível observar as análises de correlação. Os animais do grupo
 221 ALTAD3 apresentaram correlação positiva entre os níveis de glicose e P4 ($r = 0,89$; $P =$
 222 $0,001$), níveis de P4 e tempo em ócio ($r = 0,59$; $P = 0,01$), níveis de VitD3 e tempo em ócio ($r =$
 223 $0,57$; $P = 0,02$) e correlação negativa entre os níveis de P4 e tempo de ruminação ($r = -0,55$;
 224 $P = 0,03$) e níveis de VitD3 e tempo de ruminação ($r = -0,55$; $P = 0,03$). Já os animais do
 225 grupo MODERADAD3, apresentaram correlação positiva entre os níveis de glicose e P4 ($r =$
 226 $0,50$; $P = 0,001$), níveis de P4 e tempo em ócio ($r = 0,35$; $P = 0,03$) e entre os níveis de P4 e
 227 AGL ($r = 0,32$; $P = 0,04$) e correlação negativa entre níveis de P4 e o tempo de ruminação ($r =$
 228 $-0,38$; $P = 0,01$).

229

230 Os animais do grupo MAIORP4 apresentaram correlação positiva entre níveis de P4 e
 231 VitD3 ($r = 0,36$; $P = 0,04$), níveis de P4 e glicose ($r = 0,80$; $P = 0,001$). Já os animais do grupo
 232 MENORP4 apresentaram correlação positiva entre níveis de P4 e glicose ($r = 0,64$; $P = 0,01$),
 233 níveis de P4 e tempo em ócio ($r = 0,79$; $P = 0,001$) e negativa entre níveis de P4 e o tempo de
 234 ruminação ($r = -0,71$; $P = 0,01$) e níveis de VitD3 e número de visitas ao cocho com consumo
 235 ($r = -0,48$; $P = 0,02$).

236

237 Nossos estudos são preliminares, mais estudos devem ser realizados para a melhor
 238 compreensão desses metabolitos e sua influência no metabolismo, produção e comportamento
 239 alimentar dos animais.

Tabela 2: Análise de variância: Médias e \pm (erro médio padrão) dos níveis de vitamina D3, progesterona, produção de colostro, leite, glicose, AGL e variáveis comportamento alimentar

Variável	Grupo (Média+EP)			Valor de P		Grupo (Média+EP)			Valor de P	
	MAIORP4	MENORP4	Dia	Grupo	Dia*Grupo	ALTAD3	MODERADAD3	Dia	Grupo	Dia*Grupo
Consumo de alimento (kg/dia)	33,65 (\pm 1,47)	35,59 (\pm 1,76)	0,08	0,53	0,46	32,86 (\pm 1,91)	33,15 (\pm 1,63)	0,38	0,99	0,34
Tempo de consumo total (min/dia)	118,88 (\pm 6,71)	116,08 (\pm 7,64)	0,001	0,93	0,99	112,74 (\pm 8,97)	114,89 (\pm 7,49)	0,001	0,81	0,30
Visitas com consumo (Nº/dia)	29,69 (\pm 1,35)	38,17 (\pm 1,55)	0,001	0,001	0,63	31,03 (\pm 1,72)	36,09 (\pm 1,44)	0,001	0,03	0,27
Visitas sem consumo (Nº/dia)	19,04 (\pm 1,33)	21,34 (\pm 1,54)	0,001	0,19	0,42	18,01 (\pm 1,73)	23,75 (\pm 1,46)	0,001	0,01	0,79
Tempo de ruminção (min/dia)	542,72 (\pm 16,32)	619,87 (\pm 18,49)	0,001	0,001	0,83	582,77 (\pm 26,43)	553,63 (\pm 18,73)	0,12	0,20	0,64
Tempo de atividade (min/dia)	162,13 (\pm 11,99)	131,90 (\pm 13,71)	0,06	0,14	0,99	151,00 (\pm 16,08)	131,56 (\pm 11,29)	0,89	0,26	0,95
Tempo de ócio (min/dia)	727,09 (\pm 18,33)	686,87 (\pm 20,64)	0,001	0,11	0,45	704,94 (\pm 31,94)	763,23 (\pm 22,23)	0,09	0,09	0,76
Níveis de AGL (mmol/L)	0,54 (\pm 0,02)	0,60 (\pm 0,03)	0,21	0,64	0,77	0,64 (\pm 0,03)	0,52 (\pm 0,03)	0,01	0,78	0,79
Níveis de glicose (mg/dL)	82,84 (\pm 2,56)	75,93 (\pm 3,03)	0,001	0,06	0,77	83,44 (\pm 3,66)	84,41 (\pm 3,22)	0,001	0,71	0,83
Níveis de VitD3 (ng/mL)	58,07 (\pm 1,19)	58,51 (\pm 1,40)	0,81	0,87	0,87	-	-	-	-	-
Níveis de P4 (ng/mL)	-	-	-	-	-	0,54 (\pm 0,02)	0,48 (\pm 0,02)	0,001	0,09	0,81
Colostro (L)	26,96 (\pm 0,93)	30,03 (\pm 1,08)	0,001	0,03	0,46	28,36 (\pm 1,22)	(25,62 \pm 1,06)	0,001	0,09	0,39
Produção de leite (L)	43,17 (\pm 0,33)	44,95 (\pm 0,40)	0,001	0,001	0,80	43,22 (\pm 0,39)	44,19 (\pm 0,35)	0,001	0,06	0,83

de vacas leiteiras, da raça Holandês, durante os primeiros sete dias pós-parto.

P4-Progesterona; VitD3 – 25-hidroxivitamina D; AGL- Ácidos graxos livres
Foram considerados significativos os valores de $P < 0,05$.

Tabela 3: Análise de Correlações de Pearson entre as variáveis: consumo de alimento (kg/dia), visitas com e sem consumo (nº/dia), tempo de ruminação, atividade e ócio (min/dia), níveis de AGL (mmol/L), glicose (mg/dL), VitD3 (ng/mL) e P4 (ng/mL) e produção de colostro (L), dentro de cada grupo (MAIORP4, MENORP4, ALTAD3 e MODERADAD3), em relação aos níveis de P4 e VitD3.

Variáveis	Correlações	MAIORP4		MENORP4		ALTAD3		MODERADAD3	
		P4	VitD3	P4	VitD3	P4	VitD3	P4	VitD3
Consumo de alimento (kg/dia)	Correlação de Pearson	0,01	-0,02	0,22	0,16	-0,22	-0,05	0,26	0,03
	Valor de P	0,99	0,99	0,32	0,46	0,42	0,85	0,11	0,82
Visitas com consumo (nº/dia)	Correlação de Pearson	0,20	0,04	0,01	-0,48	-0,03	-0,17	0,11	-0,10
	Valor de P	0,28	0,82	0,94	0,02	0,90	0,53	0,49	0,52
Visitas sem consumo (nº/dia)	Correlação de Pearson	-0,14	-0,13	0,24	-0,08	0,05	0,17	0,04	0,08
	Valor de P	0,42	0,42	0,27	0,70	0,83	0,53	0,80	0,60
Tempo de ruminação (min/dia)	Correlação de Pearson	-0,13	0,01	-0,71	-0,03	-0,55	-0,55	-0,38	-0,03
	Valor de P	0,46	0,98	0,01	0,88	0,03	0,03	0,01	0,82
Tempo de atividade (min/dia)	Correlação de Pearson	0,07	0,30	-0,29	0,23	0,10	0,13	-0,01	0,19
	Valor de P	0,68	0,09	0,18	0,29	0,71	0,61	0,93	0,24
Tempo de ócio (min/dia)	Correlação de Pearson	0,07	-0,14	0,79	-0,02	0,59	0,57	0,35	-0,05
	Valor de P	0,67	0,42	0,001	0,91	0,01	0,02	0,03	0,76
Níveis de AGL (mmol/L)	Correlação de Pearson	0,31	-0,13	0,23	0,30	0,37	0,32	0,32	0,01
	Valor de P	0,08	0,45	0,31	0,18	0,17	0,23	0,04	0,99
Níveis de glicose (mg/dL)	Correlação de Pearson	0,80	0,33	0,64	-0,34	0,89	0,07	0,50	-0,17
	Valor de P	0,001	0,06	0,01	0,12	0,001	0,79	0,001	0,29
Níveis de VitD3 (ng/mL)	Correlação de Pearson	0,36	1,00	0,10	1,00	0,30	1,00	0,05	1,00
	Valor de P	0,04	0,001	0,66	0,001	0,27	0,001	0,73	0,001
Níveis de P4 (ng/mL)	Correlação de Pearson	1,00	0,36	1,00	0,10	1,00	0,30	1,00	0,05
	Valor de P	0,0001	0,04	0,001	0,66	0,001	0,27	0,001	0,73
Colostro (L)	Correlação de Pearson	0,30	0,15	-0,10	-0,15	0,35	0,07	0,05	0,05
	Valor de P	0,08	0,40	0,63	0,49	0,19	0,78	0,72	0,74

P4-Progesterona; VitD3 – 25-hidroxivitamina D; AGL- Ácidos graxos livres

Os animais que apresentaram níveis de P4 >0,70ng/mL constituíram o grupo MAIORP4 (n=24) e entre 0,20 a 0,70ng/mL, o grupo MENORP4 (n=17); Já os animais que apresentaram níveis de VitD3 >60ng/mL constituíram o grupo ALTAD3 (n=18) e de 35 a 60ng/mL, o grupo MODERADAD3 (n=23). Foram considerados significativos os valores de P<0,05.

238 **Discussão**

239 A primeira semana pós-parto é crítica para as vacas leiteiras, pois geralmente, são
240 expostas há vários fatores estressores, que afetam o comportamento alimentar e produção dos
241 animais (Lucy, 2019). Acredita-se, que o consumo de alimento possa influenciar os níveis de
242 P4 plasmática, mas esta relação não é totalmente esclarecida (Batista et al., 2020;
243 Vasconcelos et al., 2003). Com isso, há um grande interesse em estudos que demonstrem a
244 influência dos hormônios no comportamento alimentar e na produção de vacas leiteiras, neste
245 período.

246 O presente estudo, evidência que o grupo MENORP4 apresentou maior produção de
247 colostro e leite, bem como, maior número de visitas aos cochos com consumo e tempo de
248 ruminação em comparação aos animais do grupo MAIORP4. Segundo Sangsritavong et al.,
249 (2002), vacas de alta produção, possuem concentrações mais baixas de P4 circulantes. Além
250 disso acredita-se que isso ocorra pela associação entre a síntese de P4 pela adrenal e a
251 ativação do eixo HPA, em bovinos (Yoshida; Nakao, 2005).

252 A maior concentração plasmática de P4 no dia do parto, pode estar relacionada com a
253 ativação do eixo HPA e com o nível de cortisol, tendo assim, influência sob o comportamento
254 alimentar e conseqüentemente, sobre a produção de colostro e leite (DiGiacomo et al., 2018;
255 O'driscoll et al., 2006; Yoshida; Nakao, 2005). Sabe-se, que animais que estão sob estresse,
256 ativam o eixo HPA e aumentam a liberação do hormônio ACTH, que por sua vez secreta
257 glicocorticoides, principalmente cortisol na corrente sanguínea, na tentativa de regular e
258 buscar a homeostase do organismo frente ao estímulo estressor (DiGiacomo et al., 2018;
259 Fernandez-Novo et al., 2020). E para suprimir a ação do eixo HPA e estabilizar o organismo,
260 acredita-se que ocorra um aumento na síntese de P4 pela adrenal (Yoshida e Nakao, 2005).
261 Por outro lado, a menor produção de colostro e leite no grupo MAIORP4, pode também estar
262 relacionada com a metabolização da P4 pelo fígado (Sangsritavong et al., 2002).

263 Além disso, neste estudo, observou-se que nos grupos MENORP4, ALTAD3 e
264 MODERADAD3 houve correlação negativa entre os níveis de P4 e o tempo de ruminação e
265 positiva entre os níveis de P4 e tempo em ócio. O tempo de ruminação e ócio são
266 considerados indicadores de saúde da vaca leiteira e são usados em sistemas para detecção
267 precoce de distúrbios clínicos e subclínicos (Soriani et al., 2012; Sepúlveda-Varas et al., 2016;
268 Stevenson et al., 2020). Pois, vacas doentes após o parto, passam mais tempo em ócio do que
269 vacas saudáveis (Stevenson et al., 2020; Sepúlveda

270 Varas et al., 2014). Ainda, vacas com distúrbios clínicos, são afastadas dos cochos facilmente
271 por outras vacas, para evitar o estresse social (Dollinger e Kaufmann, 2013). E em humanos,
272 sabe-se que os níveis de P4 podem influenciar o apetite e consequentemente a frequência de
273 alimentação (Yukie et al., 2020). Por tanto, a partir dos resultados deste estudo, fica clara a
274 influência da P4 sob os parâmetros que determinam o comportamento alimentar das vacas
275 leiteiras, que pode estar relacionada com mudanças neuronais pouco estudadas em bovinos.

276 Os níveis de P4 também podem influenciar o metabolismo da gliconeogênese (Lee et
277 al., 2020), sendo essa rota, essencial para a produção de glicose em ruminantes (Li et al.,
278 2011). No presente trabalho, os grupos MENORP4, MAIORP4, ALTAD3 e
279 MODERADAD3, apresentaram correlação positiva entre os níveis de P4 e glicose. Essa
280 correlação, em todos os grupos, corrobora com os achados do trabalho de Lee et al., (2020),
281 em que a P4 aumentou os níveis de glicose sanguínea em condições de deficiência e
282 resistência à insulina em camundongos e também com o trabalho de Azeez et al., (2021), em
283 que a P4 aumentou os níveis de glicose sanguínea, através da ativação de uma enzima chave
284 do metabolismo do glicogênio, a *Glicogênio fosforilase*.

285 Além disso, a P4 também pode estar relacionada com a síntese de VitD3. No presente
286 estudo, observou-se que os animais do grupo MAIORP4 apresentaram correlação positiva
287 entre os níveis de P4 e VitD3. De forma semelhante, o trabalho de Monastra (2018), o qual
288 evidenciou que estes dois hormônios podem ter ação complementar. Pois, presume-se que a
289 P4 pode aumentar a expressão do gene Receptor de VitD3 (VDR) em células imunes, com
290 intuito de deixar estas células mais sensíveis à VitD3 ativa. Da mesma forma, o trabalho de
291 Merhi et al., (2014), observou que o tratamento com VitD3 em células da granulosa humana,
292 aumentou a produção de P4. E o trabalho de Parikh et al., (2010b), demonstrou que a VitD3
293 aumentou os níveis de P4 em células ovarianas humanas. Portanto, acredita-se que a P4 e a
294 VitD3 agem de maneira simultânea, entretanto, essa interação é muito complexa e necessita
295 de mais estudos para melhor compreensão, da ação conjunta destes hormônios sob o
296 metabolismo (Monastra, 2018).

297 Neste estudo, os animais do grupo ALTAD3, estavam com o nível de VitD3 acima do
298 indicado, porém não à nível tóxico (200 e 300ng/mL plasmático) (NRC, 2001). E este grupo
299 apresentou menor número de visitas com e sem consumo do que o grupo MODERADAD3.
300 Além disso, o grupo ALTAD3 também apresentou correlação negativa entre os níveis de
301 VitD3 e ruminação e positiva entre os níveis de VitD3 e

302 ócio. Provavelmente, estes resultados estejam relacionados com o papel da VitD3 sob
303 homeostase do cálcio e fósforo no organismo animal (Eder e Grundmann, 2022). Pois, os
304 níveis de cálcio estão intimamente relacionados com a motilidade ruminal, e
305 conseqüentemente, com o consumo e tempo de ruminação (Jorgensen et al., 1998; Silva,
306 2021).

307 **Conclusão**

308 A partir deste estudo, foi possível concluir que os animais do grupo MENORP4
309 apresentaram maior produção de colostro e leite, número de visitas aos cochos com consumo
310 e tempo de ruminação do que vacas do grupo MAIORP4. Já os animais do grupo ALTAD3
311 apresentaram correlação positiva entre os níveis de P4 e VitD3 e menor número de visitas aos
312 cochos com e sem consumo do que os animais do grupo MODERADAD3. Analisar os níveis
313 P4 e VitD3, no dia do parto de vacas leiteiras, pode auxiliar no aperfeiçoamento do manejo
314 das propriedades, pois, possuem influência sob o comportamento alimentar e produção dos
315 animais.

316

317 **Declaração de conflito de interesses para cada autor:** Os autores não têm interesses
318 financeiros conflitantes.

319

320 **Agradecimentos:** Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
321 Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
322 Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e à Granja 4 Irmãos pelo empréstimo dos animais.

323

324 **Referências bibliográficas**

325 Batista, E.O.S., R. v. Sala, M.D.D.V. Ortolan, E.F. Jesus, T.A. del Valle, F.P. Rennó, C.H.
326 Macabelli, M.R. Chiaratti, A.H. Souza, e P.S. Baruselli. 2020. Hepatic mRNA expression of
327 enzymes associated with progesterone metabolism and its impact on ovarian and endocrine
328 responses in Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) heifers with differing feed
329 intakes. *Theriogenology* 143:113–122. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2019.11.033.
330 Disponível em:
331 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X19305321?via%3Dihub>. Acesso
332 em: 12 de ago de 2022

- 333 Biggio, G., M.G. Pisu, F. Biggio, e M. Serra. 2014. Allopregnanolone modulation of HPA
334 axis function in the adult rat. *Psychopharmacology* 2014 231:17 231:3437–3444.
335 doi:10.1007/S00213-014-3521-6. Disponível em:
336 <https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-014-3521-6>. Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 337 Coppock, C.E., C.H. Noller, e S.A. Wolfe. 1974. Effect of forage-concentrate ratio in
338 complete feeds fed ad libitum on energy intake in relation to requirements by dairy cows. *J*
339 *Dairy Sci* 57:1371–1380. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(74)85069-1. Disponível em:
340 <[https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(74\)85069-1/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(74)85069-1/pdf)>. Acesso em: 12
341 de ago de 2022.
- 342 Cui, L., H. Wang, J. Lin, Y. Wang, J. Dong, J. Li, e J. Li. 2020. Progesterone inhibits
343 inflammatory response in E.coli- or LPS-Stimulated bovine endometrial epithelial cells by
344 NF-κB and MAPK pathways. *Developmental & Comparative Immunology* 105:103568.
345 doi:10.1016/J.DCI.2019.103568. Disponível em:
346 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0145305X19302332?via%3Dihub>>.
347 Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 348 DiGiacomo, K., E. Norris, F.R. Dunshea, B.J. Hayes, L.C. Maret, W.J. Wales, e B.J. Leury.
349 2018. Responses of dairy cows with divergent residual feed intake as calves to metabolic
350 challenges during midlactation and the nonlactating period. *Journal of Dairy Science*
351 101:6474–6485. doi:10.3168/JDS.2017-12569. Disponível em: <
352 <https://www.journalofdairyscience.org/action/showPdf?pii=S0022-0302%2818%2930272-8>>.
353 Acesso em: 12 de ago. 2022.
- 354 Dollinger, J., e O. Kaufmann. 2013. Feeding behaviour in dairy cows with and without the
355 influence of clinical diseases or subclinical disorders. *Archives Animal Breeding* 56:149–159.
356 doi:10.7482/0003-9438-56-014. Disponível em:
357 <<https://aab.copernicus.org/articles/56/149/2013/aab-56-149-2013.pdf>>. Acesso em: 12 de
358 ago de 2022.
- 359 Eder, K., e S.M. Grundmann. 2022. Vitamin D in dairy cows: metabolism, status and
360 functions in the immune system. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2021.2017747> 76:1–33.
361 doi:10.1080/1745039X.2021.2017747. Disponível em:
362 <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1745039X.2021.2017747>>. Acesso em: 12 de
363 ago de 2022.
- 364 Fernandez-Novio, A., S.S. Pérez-Garnelo, A. Villagrà, N. Pérez-Villalobos, e S. Astiz. 2020.
365 The Effect of Stress on Reproduction and Reproductive Technologies in Beef Cattle—A
366 Review. *Animals* 2020, Vol. 10, Page 2096 10:2096. doi:10.3390/ANI10112096. Disponível
367 em: <<https://www.mdpi.com/2076-2615/10/11/2096>>. Acesso em: 12 de ago de 2022
- 368 Horst, R.L., J.P. Goff, e T.A. Reinhardt. 2003. Role of Vitamin D in Calcium Homeostasis
369 and Its Use in Prevention of Bovine Periparturient Paresis. *Acta vet. scand* 97:35–50.

- 370 Johnsen, J.F., K. Ellingsen, A.M. Grøndahl, K.E. Bøe, L. Lidfors, e C.M. Mejdell. 2015. The
 371 effect of physical contact between dairy cows and calves during separation on their post-
 372 separation behavioural response. *Applied Animal Behaviour Science* 166:11–19.
 373 doi:10.1016/J.APPLANIM.2015.03.002. Disponível em:
 374 <<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.03.002>>. Acessado em: 12 de ago de 2022.
- 375 Johnson, H.D., e W.J. Vanjonack. 1976. Effects of Environmental and Other Stressors on
 376 Blood Hormone Patterns in Lactating Animals. *Journal of Dairy Science* 59:1603–1617.
 377 doi:10.3168/JDS.S0022-0302(76)84413-X. Disponível em:
 378 <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84413-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84413-X)>. Acessado em: 12 de ago de 2022.
- 379 Jorgensen, R.J., N.R. Nyengaard, S. Ham, J.M. Enemark, e P.H. Andersen. 1998. Rumen
 380 motility during induced hyper- and hypocalcaemia. *Acta Vet Scand* 39:331–338.
 381 doi:10.1186/BF03547781. Disponível em: <
 382 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050694/pdf/13028_1998_Article_BF03547](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050694/pdf/13028_1998_Article_BF03547781.pdf)
 383 [781.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050694/pdf/13028_1998_Article_BF03547781.pdf)>. Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 384 Kim, G., J.G. Lee, S.A. Cheong, J.M. Yon, M.S. Lee, E.J. Hong, e I.J. Baek. 2020.
 385 Progesterone receptor membrane component 1 is required for mammary gland development.
 386 *Biology of Reproduction* 103:1249–1259. doi:10.1093/BIOLRE/IOAA164. Disponível em:
 387 <<https://doi.org/10.1093/biolre/ioaa164>>. Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 388 de Koster, J.D., e G. Opsomer. 2013. Insulin Resistance in Dairy Cows. *Veterinary Clinics:*
 389 *Food Animal Practice* 29:299–322. doi:10.1016/J.CVFA.2013.04.002. Disponível em:
 390 <<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.04.002>>. Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 391 Lee, S.R., W.Y. Choi, J.H. Heo, J. Huh, G. Kim, K.P. Lee, H.J. Kwun, H.J. Shin, I.J. Baek, e
 392 E.J. Hong. 2020. Progesterone increases blood glucose via hepatic progesterone receptor
 393 membrane component 1 under limited or impaired action of insulin. *Scientific Reports* 2020
 394 10:1 10:1–11. doi:10.1038/s41598-020-73330-7. Disponível em: <
 395 <https://www.nature.com/articles/s41598-020-73330-7.pdf>>. Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 396 Li, X., X. Li, G. Bai, H. Chen, Q. Deng, Z. Liu, L. Zhang, G. Liu, e Z. Wang. 2011. Effects of
 397 non-esterified fatty acids on the gluconeogenesis in bovine hepatocytes. *Molecular and*
 398 *Cellular Biochemistry* 2011 359:1 359:385–388. doi:10.1007/S11010-011-1032-X.
- 399 Lucy, M.C. 2019. Stress, strain, and pregnancy outcome in postpartum cows. *Animal*
 400 *Reproduction* 16:455–464. doi:10.21451/1984-3143-AR2019-0063. Disponível em:
 401 <<https://www.scielo.br/j/ar/a/NBYC6JwPbQs8M6XLmL8jk5t/?format=pdf&lang=en>>.
 402 Acesso em: 15 de jul de 2022.
- 403 Merhi, Z., A. Doswell, K. Krebs, e M. Cipolla. 2014. Vitamin D alters genes involved in
 404 follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells. *J Clin*
 405 *Endocrinol Metab* 99. doi:10.1210/JC.2013-4161. Disponível em:
 406 <<https://doi.org/10.1210/jc.2013-4161>>. Acesso em: 17 de jul de 2022.

- 407 Monastra, G., S. de Grazia, L. de Luca, S. Vittorio, e V. Unfer. 2018. Vitamin D: a steroid
408 hormone with progesterone-like activity.. *European Review for Medical and Pharmacological*
409 *Sciences* 22:2502–2512. doi:10.26355/EURREV_201804_14845.
- 410 NRC. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 2001. Disponível em:
411 <https://profsite.um.ac.ir/~kalidari/software/NRC/HELP/NRC%202001.pdf>. Acesso em: 12 de
412 ago de 2022.
- 413 O’Driscoll, K., M.A.G. von Keyserlingk, e D.M. Weary. 2006. Effects of Mixing on Drinking
414 and Competitive Behavior of Dairy Calves. *Journal of Dairy Science* 89:229–233.
415 doi:10.3168/JDS.S0022-0302(06)72087-2. Disponível em: <
416 [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(06\)72087-2/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(06)72087-2/fulltext)>. Acesso em:
417 11 de jul de 2022.
- 418 Parikh, G., M. Varadinova, P. Suwandhi, T. Araki, Z. Rosenwaks, L. Poretzky, e D. Seto-
419 Young. 2010a. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding
420 protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Hormone and Metabolic Research*
421 42:754–757. doi:10.1055/S-0030-1262837/BIB. Disponível em:
422 <https://friedmanfellows.com/assets/pdfs/elibrary/2010_GParikh_vitaminD.pdf>. Acesso
423 em: 17 de jul de 2022.
- 424 Sangsritavong, S., D.K. Combs, R. Sartori, L.E. Armentano, e M.C. Wiltbank. 2002. High
425 Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in
426 Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 85:2831–2842. doi:10.3168/JDS.S0022-
427 0302(02)74370-1. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-
428 0302\(02\)74370-1/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(02)74370-1/fulltext). Acesso em: 20 de jul de 2022.
- 429 Sepúlveda-Varas, P., K.L. Proudfoot, D.M. Weary, e M.A.G. von Keyserlingk. 2016.
430 Changes in behaviour of dairy cows with clinical mastitis. *Applied Animal Behaviour Science*
431 175:8–13. doi:10.1016/J.APPLANIM.2014.09.022.
- 432 SILVA, A.S. 2021. 25-hidroxivitamina-D3 melhora o metabolismo energético e o
433 desempenho de vacas leiteiras. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, Botucatu.
434 Disponível em:
435 [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/204562/silva_as_dr_botfmvz.pdf?sequenc
436 e=5&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/204562/silva_as_dr_botfmvz.pdf?sequenc). Acesso em: 10 de ago de 2022.
- 437 Smith, V.G., L.A. Edgerton, H.D. Hafs, e E.M. Convey. 1973. Bovine Serum Estrogens,
438 Progesterins and Glucocorticoids during Late Pregnancy, Parturition and Early Lactation.
439 *Journal of Animal Science* 36:391–396. doi:10.2527/JAS1973.362391X. Disponível em:
440 <<https://doi.org/10.2527/jas1973.362391x>>. Acesso em: 18 de jul de 2022.
- 441 Soriani, N., E. Trevisi, e L. Calamari. 2012. Relationships between rumination time,
442 metabolic conditions, and health status in dairy cows during the transition period. *Journal of*
443 *Animal Science* 90:4544–4554. doi:10.2527/JAS.2011-5064. Disponível em:
444 <<https://doi.org/10.2527/jas.2011-5064>>. Acesso em: 12 de jul de 2022.

- 445 Stevenson, J.S., S. Banelos, e L.G.D. Mendonça. 2020. Transition dairy cow health is
446 associated with first postpartum ovulation risk, metabolic status, milk production, rumination,
447 and physical activity. *J Dairy Sci* 103:9573–9586. doi:10.3168/JDS.2020-18636. Disponível
448 em: < [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(20\)30628-7/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(20)30628-7/fulltext)>.
449 Acesso em: 25 de jul de 2022.
- 450 Stivanin, S.C.B., E.F. Vizzotto, J.P. Matiello, F.S. Machado, M.M. Campos, T.R. Tomich,
451 L.G.R. Pereira, e V. Fischer. 2021. Behavior, feed intake and health status in Holstein, Gyr
452 and Girolando-F1 cows during the transition period: Behavior and health of dairy cows in the
453 transition period. *Applied Animal Behaviour Science* 242:105403.
454 doi:10.1016/J.APPLANIM.2021.105403. Disponível em: <
455 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2021.105403>>. Acesso em: 18 de jun de 2022.
- 456 Vasconcelos, J.L.M., S. Sangsritavong, S.J. Tsai, e M.C. Wiltbank. 2003. Acute reduction in
457 serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology* 60:795–
458 807. doi:10.1016/S0093-691X(03)00102-X. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0093-
459 691X\(03\)00102-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00102-X)>. Acesso em: 12 de jul de 2022.
- 460 Villa-Godoy, A., T.L. Hughes, R.S. Emery, L.T. Chapin, e R.L. Fogwell. 1988. Association
461 Between Energy Balance and Luteal Function in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy
462 Science* 71:1063–1072. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(88)79653-8. Disponível em:
463 [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(88\)79653-8/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(88)79653-8/pdf). Acesso em: 12 de
464 ago de 2022.
- 465 Yoshida, C., e T. Nakao. 2005. Response of Plasma Cortisol and Progesterone after ACTH
466 Challenge in Ovariectomized Lactating Dairy Cows. *Journal of Reproduction and
467 Development* 51. Disponível em: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/51/1/51_1_99/ pdf/
468 char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/51/1/51_1_99/pdf/-char/en). Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 469 Yukie, M., I. Aoi, K. Mizuki, e Y. Toshiyuki. 2020. Change in appetite and food craving
470 during menstrual cycle in young students. *International Journal of Nutrition and Metabolism*
471 12:25–30. doi:10.5897/IJNAM2019.0264. Disponível em:
472 <<https://doi.org/10.1262/jrd.51.99>>. Acesso em: 12 de ago de 2022.
- 473

4. Considerações Finais

A partir dos resultados desta Tese, foi possível concluir que os níveis de VitD3 e P4 no dia do parto e ao longo da primeira semana pós-parto de vacas leiteiras, podem influenciar parâmetros do comportamento alimentar dos animais. Provavelmente, este foi o primeiro trabalho que investigou a influência da VitD3 sobre a os níveis de P4 no metabolismo bovino. Além disso, foi possível desenvolver uma nova plataforma farmacêutica para liberação prolongada do hormônio FSH, para ser utilizado em protocolos de superovulação bovina, tanto para programas de transferência de embriões, quanto para a produção de embriões *in vitro*, com intuito de simplificar os protocolos de superovulação, reduzindo custos, manejo e consequentemente, afetando menos o bem-estar animal.

Contudo, a partir da totalidade de dados e conhecimento gerado, através desta tese, é visível a grande contribuição científica para a sociedade, além de “abrir caminho” para o desenvolvimento de mais trabalhos científicos na área, com intuito de ampliar o conhecimento gerado. Também, caso seja comercializada, a nova tecnologia desenvolvida poderá contribuir para facilitar o manejo reprodutivo dos animais, aumentar custo benefício ao produtor, visando o bem-estar animal e ainda, enriquecer a indústria farmacêutica veterinária, com um produto de alta tecnologia.

Referências bibliográficas

ALVAREZ, J. A.; ASHRAF, A. Role of Vitamin D in Insulin Secretion and Insulin Sensitivity for Glucose Homeostasis. **International Journal of Endocrinology**, v. 2010, p. 351385, 2009/08/19 2010. ISSN 1687-8337. Disponível em: < <https://doi.org/10.1155/2010/351385> >.

ANAGNOSTIS, P.; KARRAS, S.; GOULIS, D. G. Vitamin D in human reproduction: a narrative review. **Int J Clin Pract**, v. 67, n. 3, p. 225-35, Mar 2013 ISSN 1368-5031.

AZEEZ, J. M. et al. New insights into the functions of progesterone receptor (PR) isoforms and progesterone signaling. **American journal of cancer research**, v. 11, n. 11, p. 5214-5232, 2021. ISSN 2156-6976. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34873457>

BICALHO, M. L. S. et al. The association of plasma glucose, BHBA, and NEFA with postpartum uterine diseases, fertility, and milk production of Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 88, p. 270-282, 2017/01/15/ 2017. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16304551> >.

BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J. Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 38-48, 2014/01/01/ 2014. ISSN 0093-691X.

BUTLER, W. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 83, p. 211-218, 10/01 2003.

BUTLER, W. R.; EVERETT, R. W.; COPPOCK, C. E. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. **J Anim Sci**, v. 53, n. 3, p. 742-8, Sep 1981. ISSN 0021-8812 (Print) 0021-8812.

CHIU, K. C. et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. 5, p. 820-5, May 2004. ISSN 0002-9165 (Print) 0002-91

COPPOCK, C. E.; NOLLER, C. H.; WOLFE, S. A. Effect of Forage-Concentrate Ratio in Complete Feeds Fed Ad Libitum On Energy Intake in Relation to Requirements by Dairy Cows¹. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 11, p. 1371-1380, 1974/11/01/ 1974. ISSN 0022-0302. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030274850691> >.

D'ALESSANDRO, A. G. et al. Superovulation in ewes by a single injection of pFSH dissolved in polyvinylpyrrolidone (PVP): effects of PVP molecular weight, concentration and schedule of treatment. **Animal Reproduction Science**, v. 65, n. 3,

p. 255-264, 2001/03/30/ 2001. ISSN 0378-4320. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037843200100080X> >

DE KOSTER, J. D.; OPSOMER, G. Insulin resistance in dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 299-322, 2013. ISSN 0749-0720.

DOLLINGER, J.; KAUFMANN, O. Feeding behaviour in dairy cows with and without the influence of clinical diseases or subclinical disorders. **Arch. Anim. Breed.**, v. 56, n. 1, p. 149-159, 2013. ISSN 2363-9822. Disponível em: <
<https://aab.copernicus.org/articles/56/149/2013/> >.

EDER, K., e S.M. GRUNDMANN. 2022. Vitamin D in dairy cows: metabolism, status and functions in the immune system.

Archives of Animal Nutrition. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2021.2017747>
 76:1–33. doi:10.1080/1745039X.2021.2017747. Disponível em:
 <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1745039X.2021.2017747>>. Acesso em: 12 de ago de 2022.

FAKHARI, A.; CORCORAN, M.; SCHWARZ, A. Thermogelling properties of purified poloxamer 407. **Heliyon**, v. 3, n. 8, p. e00390, 2017/08/01/ 2017. ISSN 2405-8440. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844017305054> >.

HOLICK, M. F. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 9, n. 1, 2002. ISSN 1752-296X.

HORST, R. L. Role of vitamin D in calcium homeostasis and its use in prevention of bovine periparturient paresis. **Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum**, v. v. suppl. 97, p. pp. 35-0-2003 v.suppl. 97, 2003 2003.

Nutrient requirements of dairy cattle (NRC): National Academies Press, 2001. ISBN 0309069971.

KELLY, P.; DUFFY, P.; ROCHE, J.F.; BOLAND, M.P. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. *Animal Reproduction Science*. v.46, p. 1-14. 1966.

KIMURA, K. et al. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. **Theriogenology**, v. 68, n. 4, p. 633-639, 2007/09/01/ 2007. ISSN 0093-691X. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X0700283X> >.

KREIPE, L. et al. First report about the mode of action of combined butafosfan and cyanocobalamin on hepatic metabolism in nonketotic early lactating cows. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 10, p. 4904-4914, 2011. ISSN 0022-0302.

LEE, S. R. et al. Progesterone increases blood glucose via hepatic progesterone receptor membrane component 1 under limited or impaired action of insulin

Scientific Reports, v. 10, n. 1, p. 16316, 2020/10/01 2020. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73330-7> >.

MERHI, Z. et al. Vitamin D Alters Genes Involved in Follicular Development and Steroidogenesis in Human Cumulus Granulosa Cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 99, n. 6, p. E1137-E1145, 2014. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1210/jc.2013-4161> >. Acesso em: 5/11/2021.

NARANJO CHACÓN, F. et al. Embryo production after superovulation of bovine donors with a reduced number of FSH applications and an increased eCG dose. **Theriogenology**, v. 141, p. 168-172, 2020/01/01/ 2020. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X1930408X> >.

NELSON, C. et al. Vitamin D Signaling in the Bovine Immune System: A Model for Understanding Human Vitamin D Requirements. **Nutrients**, v. 4, p. 181-96, 03/01 2012.

NYOMBA, B. L.; BOUILLON, R.; DE MOOR, P. Influence of vitamin D status on insulin secretion and glucose tolerance in the rabbit. **Endocrinology**, v. 115, n. 1, p. 191-197, 1984. ISSN 0013-7227.

PARIKH, G. et al. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. **Horm Metab Res**, v. 42, n. 10, p. 754-7, Sep 2010. ISSN 0018-5043.

TAKEDOMI, T. et al. Superovulation of holstein heifers by a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. **Theriogenology**, v. 43, n. 7, p. 1259-1268, 1995/05/01/ 1995. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X9500097R> >.

VILLA-GODOY, A. et al. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 4, p. 1063-1072, 1988. ISSN 0022-0302.

VILLA-GODOY, A. et al. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 71, n. 4, p. 1063-72, Apr 1988. ISSN 0022-0302 (Print) 0022-0302.

VILLANOVA, J. C.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Pharmaceutical applications of polymers. **Polímeros**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010. ISSN 0104-1428.

WESCHENFELDER, M. Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o parto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de bPL. 2013.

WOJTUSIK, J.; JOHNSON, P. A. Vitamin D Regulates Anti-Mullerian Hormone Expression in Granulosa Cells of the Hen1. **Biology of Reproduction**, v. 86, n. 3, 2012. ISSN 0006-3363. Disponível em: <<https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.094110> >. Acesso em: 5/10/2022

Anexos

Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal - Artigo



PARECER Nº
PROCESSO Nº

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
68/2020/CEEA/REITORIA
23110.055072/2019-61

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “Desenvolvimento de uma suspensão oral para prevenção e auxiliar no tratamento de hipocalcemia em vacas leiteiras”, registrada com o nº 23110.055072/2019-61, sob a responsabilidade de Márcio Nunes Corrêa - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer FAVORÁVEL a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 10 de junho de 2020.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	19/06/2020 a 28/02/2022
Espécie/linhagem/raça	Bovina/Holandês
Nº de animais	24
Idade	3-4 anos
Sexo	Fêmeas
Origem	Granja 4 Irmãos - Rio Grande/RS

Código para cadastro nº CEEA 55072-2019

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA

Anexo II - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal -Patente



PARECER Nº
PROCESSO Nº

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
94/2020/CEEA/REITORIA
23110.055083/2019-41

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Nova formulação para promover a superovulação**”, registrada com o nº 23110.055083/2019-41, sob a responsabilidade de **Márcio Nunes Corrêa** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **08 de julho de 2020**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	15/07/2020 a 01/02/2022
Espécie/linhagem/raça	Bovinos/Holandês
Nº de animais	20
Idade	36 a 48 meses
Sexo	Fêmeas
Origem	Granja 4 Irmãos, 4º Distrito – Taim. Rio Grande.

Código para cadastro nº CEEA 55083-2019

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA