

## EVOLUZIONE DEI LIVELLI EMATICI DI ORMONI STEROIDEI IN MANZE MAREMMANE DA 9 A 25 MESI DI VITA

Sargentini C. (1), Giorgetti A. (1), Bozzi R. (1), Lupi P. (1), Cazzola P.L. (2),  
Beltempo S. (2), Carelli T. (2)

(1) Dipartimento di Scienze Zootecniche – Università di Firenze - Via delle Cascine, 5 - 50144  
Firenze, Italia

(2) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta – Via Bologna,  
148 - 10154 Torino, Italia

**RIASSUNTO** - Scopo dello studio è stato determinare l'età alla pubertà in bovine Maremmane e verificare il ripetersi dei cicli riproduttivi nel corso delle stagioni. Su 6 bovine stabulate ed alimentate con razioni contenenti 0,70 U.F.L./kg s.s., 121 g di proteina grezza/kg s.s., sono stati determinati, da 9 a 25 mesi di età, i livelli ematici di progesterone e 17- $\beta$ -estradiolo. Il plasma è stato sottoposto ad analisi RIA per il dosaggio degli ormoni steroidei. La pubertà, considerata raggiunta quando il livello di progesterone si è mantenuto, in due prelievi consecutivi, superiore ad 1 ng/ml di plasma, si è manifestata su 5 bovine, ad un'età media di 17 mesi. Il diagramma delle oscillazioni dei tassi ormonali nel corso dell'anno sembra escludere la stagionalità dei cicli estrali: eventuali periodi di anestro riscontrabili nelle mandrie sono da mettere in relazione alla scarsa disponibilità dei pascoli in alcuni mesi dell'anno.

**PAROLE CHIAVE:** Maremmana, Pubertà, Estradiolo, Progesterone

### INTRODUZIONE

Attestata l'eccellente qualità delle carni di vitelli di razza Maremmana (Bozzi *et al.*, 1998; Giorgetti *et al.*, 1996; Sargentini *et al.*, 1999), risultano da approfondire, in funzione della valorizzazione delle biodiversità, alcuni aspetti riproduttivi di questa razza che presenta altissima percentuale di nati vivi, ottima attitudine materna, discreta produzione latte e bassissima frequenza di parti difficili, ma anche un'età al primo parto di 3 anni e 9 mesi (Jannella *et al.*, 1977), solo leggermente anticipata in anni recenti (Ronchi e Nardone, 1988). In alcuni allevamenti si riscontrano inoltre indici di fertilità inferiori alle attese. Alcuni Autori (Giorgetti *et al.*, 1986; Lucifero, 1978; Lucifero *et al.*, 1981) individuano la causa di queste manifestazioni nelle alterne e spesso critiche disponibilità alimentari cui gli animali destinati alla riproduzione debbono sottostare. La razza Maremmana è caratterizzata infine da una marcata stagionalità dei parti, concentrati nei mesi primaverili. Questo fenomeno, indubbiamente favorito dalla tecnica di allevamento adottata, potrebbe anche indicare una sorta di stagionalità degli estri, peraltro anomala nella specie bovina. Vitelle e manze Maremmane sembrano presentare infatti, nel periodo invernale, livelli quasi nulli di estrogeni ed assai bassi di progesterone (Santarelli, 1988): ciò induce ad ipotizzare una ridottissima attività gonadotropica, con scomparsa dei calori ed anestro autunno-invernale. Per determinare il momento della pubertà e valutare il verificarsi ed il ripetersi dei cicli riproduttivi nel corso dell'anno sono state studiate 6 bovine Maremmane allevate in condizioni non critiche.

### MATERIALI E METODI

6 vitelle Maremmane, nate nella primavera del 1999 (IT053000000471 [471]; IT053000000473 [473]; IT053000000485 [485]; IT053000000486 [486]; IT053000000490 [490]; IT053000000507 [507]), all'età media di circa 9 mesi (281  $\pm$  17 d) sono state immesse in prova presso gli stabulari del Dipartimento di Scienze Zootecniche dell'Università degli Studi di Firenze, ove sono rimaste fino a circa 2 anni (750  $\pm$  17 d), età alla quale sarebbe auspicabile poter destinare le bovine alla riproduzione. I soggetti, allevati a stabulazione libera, sono stati alimentati con razioni calcolate per femmine in accrescimento in modo da assicurare incrementi medi giornalieri di circa 0,600 kg. Tali razioni, con 0,70 U.F.L./kg s.s. e 121 g di proteina grezza/kg s.s., erano costituite per il 65-70% da fieni polifiti ed erba medica, per il 35-30% da concentrati (per l'80-84% mais ed orzo e poi farina di estrazione di

soia e crusca) ed integrate con elementi minerali somministrati sotto forma di rulli di sale pastorizio. Le vitelle sono state pesate e sottoposte, con cadenza settimanale, a prelievi di sangue per il dosaggio dei livelli di progesterone e 17-beta-estradiolo. I campioni di sangue, prelevati, con metodo *Vacutainer* in provette da 10 ml con eparina di litio come anticoagulante, dalla vena giugulare superficiale, sono stati raccolti a partire dalla fine di dicembre 1999 fino alla prima settimana di aprile del 2001. Previa centrifugazione, a 3500 r.p.m., per il recupero del plasma, sono stati stoccati a -20°C ed inviati, con trasporto refrigerato, all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta di Torino, presso i cui laboratori sono state effettuate le analisi con metodo Radioimmunologico (RIA). I dati raccolti sono stati sottoposti ad analisi statistica utilizzando la PROC REG di SAS (SAS Institute, 1993) esaminando ogni variabile fino al massimo grado di significatività. Sono state quindi stimate le medie dei valori alle età più importanti ai fini degli accrescimenti. La pubertà è stata considerata raggiunta quando il livello di progesterone si è mantenuto, in due prelievi consecutivi, superiore ad 1 ng/ml di plasma (Bergfeld *et al.*, 1995). È stato calcolato infine il numero dei cicli riproduttivi verificatisi nel corso della prova e la loro durata, al fine di determinare la ciclicità e la regolarità degli estri, è stata sottoposta ad ANOVA tramite la PROC GLM di SAS (SAS Institute, 1989).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

La pubertà si è verificata, nell'arco della prova, nell'83% dei casi. Nelle 5 femmine in cui è stata raggiunta essa si è manifestata in media intorno ai 510 giorni di età (17 mesi), assai lontano dai 12-13 mesi delle razze bovine da latte (Fajersson *et al.*, 1991), e da quanto riportato per genotipi da carne (Bergfeld *et al.*, 1995; Patterson *et al.*, 1992). Età alla pubertà inferiori sono riscontrabili anche in zebù x bovine da latte, zebù x bovine da carne e zebù dell'Africa orientale (Galina & Arthur, 1989). Valori superiori sono riportati invece per femmine Sahiwal (Thair *et al.*, 1983), in zebù Ongole (Rao e Rao, 1981), in soggetti Brahaman (Plasse *et al.*, 1968) ed in bovini Criollo (Ordonez *et al.*, 1974; Linares *et al.*, 1974). Età alla pubertà simili a quelle della presente prova sono state riscontrate in incroci Holstein o Jersey x Sahiwal (Thair *et al.*, 1983) e Brahaman x Shorthorn (Plasse *et al.*, 1968). Il riferimento alle razze bovine allevate in ambienti tropicali o subtropicali o addirittura ad alcune razze zebuine (*Bos indicus*) è giustificato dal fatto che, mentre per le razze specializzate delle zone temperate i parametri riproduttivi sono noti e la gestione economica delle mandrie segue pratiche oramai consolidate, essi appaiono più problematici per quelle rustiche e meno conosciute. I tassi ematici di progesterone pur mostrando il tipico comportamento oscillante con picchi e bruschi cali (figura 1), se considerati in funzione dell'età assumono andamento di tipo rettilineo ( $Y = -2,677 + 0,00725x$ ;  $P < 0,01$ ;  $DSR = 1,868$ ;  $R^2 \text{ agg.} = 0,221$ ) con incrementi positivi e costanti, analogamente a quanto riportato da Santarelli (1988). Considerando il numero di giorni che, a partire dalla pubertà, trascorre tra un picco di progesterone e l'altro, è possibile valutare la durata del ciclo ed il suo ripetersi nel corso del tempo. Dal momento della pubertà la prova sperimentale comprende mediamente 9 periodi riconducibili al verificarsi degli estri. Il fattore periodo non ha mai influenzato la durata dei cicli che risultano mediamente di 20,2 giorni, inducendo ad ipotizzare il ripetersi regolare dei medesimi. Anche i dati relativi al tasso ematico di 17-beta-estradiolo si distribuiscono in maniera oscillante (figura 2), e, se considerati in funzione dell'età, seguono anch'essi andamento rettilineo ( $Y = -0,8665 + 0,00275x$ ;  $P < 0,01$ ;  $DSR = 1,419$ ;  $R^2 \text{ agg.} = 0,069$ ), tendendo costantemente ad aumentare. Dai grafici riportati per progesterone e 17-beta-estradiolo si può osservare che, se si eccettua la bovina mai andata in calore, dal momento della pubertà in poi gli estri sembrano presentarsi in maniera compatibile con la normale gestione riproduttiva delle mandrie. Si può affermare in definitiva che già in corrispondenza degli ultimi prelievi, quando la pubertà si è manifestata ormai da 6-7 mesi, i cicli siano tali da permettere l'immissione alla monta. Ciò sembrerebbe rendere possibile l'anticipo di un anno della carriera riproduttiva. La regolare attività gonadotropica nei mesi successivi alla pubertà, che si verifica a partire dal mese di settembre, porta a scartare l'ipotesi di un anestro invernale. Le prestazioni ottenute intorno ai 2 anni di età, così come quelle riportate da Santarelli (1988), non possono non prescindere dalle condizioni alimentari: verificata infatti la potenzialità fisiologica riproduttiva anche durante l'inverno e scartata l'ipotesi di un anastro dovuto alla temperatura ed al fotoperiodo, la ridotta attività gonadotropica riscontrata da

Santarelli deve essere attribuita quasi esclusivamente alla scarsa disponibilità di alimenti e soprattutto alla scarsa qualità dei pochi alimenti disponibili nel periodo che precede la stagione di monta. Particolare attenzione dovrà essere quindi posta alle integrazioni alimentari nel periodo invernale. L'allevatore dovrà in definitiva assicurare alle bovine da immettere alla riproduzione per la prima volta a 24 mesi se non un vero e proprio *flushing* almeno la piena copertura dei fabbisogni alimentari anche nei periodi di scarsa produzione dei pascoli.

#### **RINGRAZIAMENTI**

Ricerca effettuata con fondi ARSIA – Toscana e Comunità Montana Colline Metallifere.

#### **BIBLIOGRAFIA - REFERENCES**

- Bergfeld E.G.M., Rasby R.J., Nielsen M.K., Kinder J.E. 1995. Anim. Reprod. Sci., 40:253-259.
- Bozzi R., Sargentini C., Negrini R., Forabosco F., Giorgetti A. 1998. Atti Iv Congr. Naz. Biodiversità Alghero 8-11/09. 1061-1064.
- Fajersson P., Barradas, H.V., Roman-Ponce, H., Cook, R.M. 1991. Theriog., 35:845–855.
- Galina C.S. And Arthur G.H., 1989. Anim. Breed. Abstr., 7:583-590.
- Giorgetti A., Poli B.M., Sargentini C., Bozzi R., Funghi R., Martini A., Rondina D., Di Pirro M. 1996. Atti XXXI Simposio Internazionale di Zootecnia Milan 13/09. 143-147.
- Giorgetti A., Lucifero M., Zappa A., Lupi P. 1986. Zoot. Nutr. Anim., 12:153-158.
- Jannella G.G., Lucifero M., Secchiari P. 1977. Zoot. Nutr. Anim., 3:193-208.
- Lucifero M., Giorgetti A., Lupi P., Marchese B. 1981. Zoot. Nutr. Anim., 7:119-129.
- Lucifero M. 1978. Zoot. Nutr. Anim., 4:361-367.
- Ordonez J.V., Linares T.G., Plasse D., Verde O.S., Burguera M.H., Gil R.A. 1974. Asociación Latinoamericana de Producción Animal, 9:90.
- Pattersson D.J., Corah L.R., Brethour J.R., Higgings J.J., Kiracofe G.H., Stevenson J.S. 1992. J. Anim. Sci., 70:1994-1999.
- Plasse D., Warnick A. C., Koger M. 1968. J. Anim. Sci., 27:94-97.
- Rao S.V., Rao A.R. 1981. Ind. Vet. J., 58:881-884.
- Ronchi B., Nardone A. 1988. Atti Sem. “Salvaguardia e valorizzazione del bovino maremmano nella realtà agro-zootecnica del territorio laziale”. 77-95.
- Santarelli V. 1988. Caratteristiche riproduttive, profilo metabolico e quadro ormonale della razza bovina Maremmana allevata in provincia di Grosseto. Tesi di laurea.
- Sargentini C., Lucifero M., Forabosco F., Rondina D., Memoli A. 1999. Atti XIII Congr. Naz. A.S.P.A. 644-646.
- SAS 1993. SAS/STAT User's guide. 6.08 version. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Thair M., Ahmad N., Shah S.I.H., Hussain T. 1983. Pak. Vet. J., 3: 76-78.

Figura 1. Andamento del livello ematico di progesterone da 280 a 500 giorni di età  
*Figure 1. Trend of haematic level of progesterone from 280 to 500 days of age*

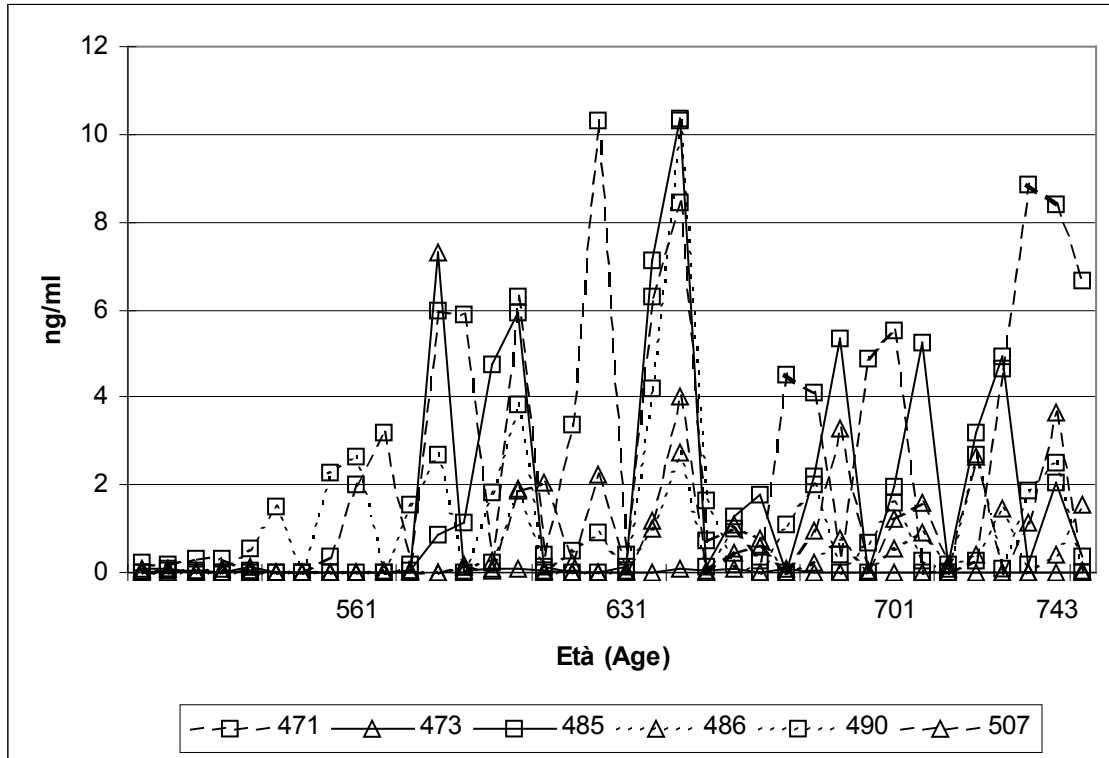
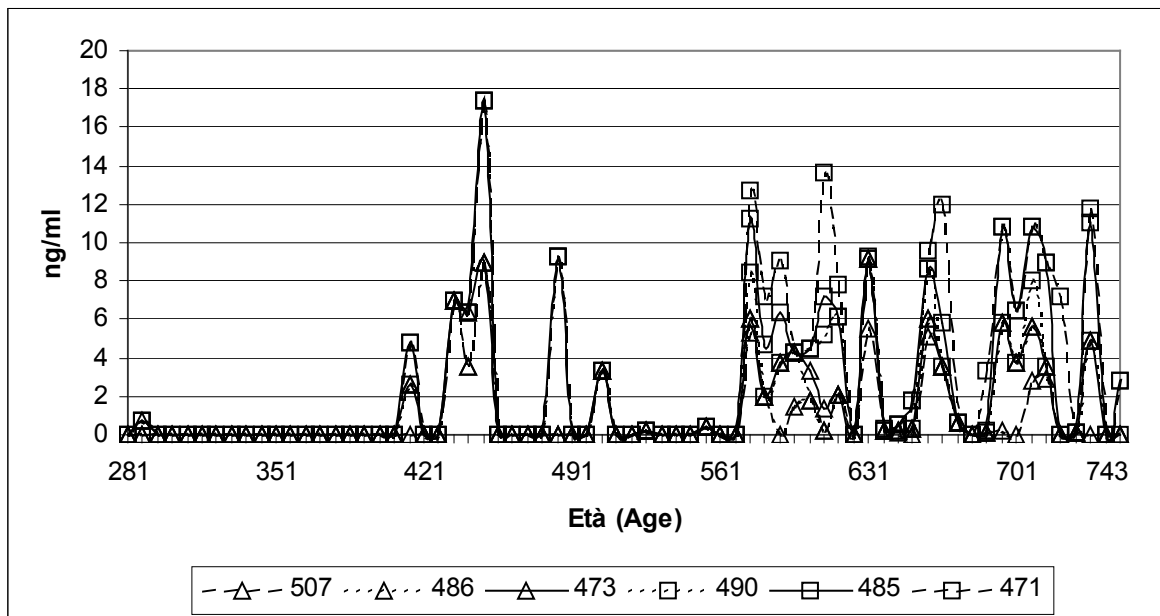


Figura 2. Andamento del livello ematico di 17- $\beta$ -estradiolo  
*Figure 2. Trend of haematic level of 17- $\beta$ -estradiol*



## EVOLUTION OF HAEMATIC LEVEL OF STEROIDAL HORMONES IN MAREMMANA HEIFERS FROM 9 TO 25 MONTHS OF AGE

Sargentini C. (1), Giorgetti A. (1), Bozzi R. (1), Lupi P. (1), Cazzola P.L. (2), Beltempo S. (2), Carelli T. (2)

**ABSTRACT** - The aim of the present study was to determine the age at puberty in Maremmana heifers and to verify the repeatability of the reproductive cycles along the seasons. Haematic levels of progesterone and 17- $\beta$ -estradiol have been determined on 6 heifers raised in pen and fed with 0.70 Milk F.U./kg d.m. and 121 g of gross protein/kg d.m, starting from 9 up to 25 months of age. Plasma was submitted to RIA analysis in order to measure steroidal hormones. Puberty was considered reached when two subsequent measure of progesterone were higher than 1 ng/ml of plasma. This happened in 5 out of 6 heifers at an average age of 17 months. The fluctuations of the hormonal levels along the year seems to exclude the seasonality of oestrous cycles: possible periods of anoestrus noticed in some herds could be related to reduced availability of pastures in few months of the year.

**KEYWORDS:** Maremmana cattle, Puberty, Estradiol-17- $\beta$ , Progesterone

### INTRODUCTION

The quality of Maremmana beef cattle meat is well known (Bozzi *et al.*, 1998; Giorgetti *et al.*, 1996; Sargentini *et al.*, 1999), but few information are available about the reproductive behaviour of this breed. It is characterised by an extremely low percentage of stillborn calves, good maternal attitude, fairly good milk production and reduced frequency of difficult parities. But from the other side it presents an age at first calving of 3 years and 9 months (Jannella *et al.*, 1977), only slightly anticipated in these recent years (Ronchi e Nardone, 1988). Some herds present fertility indices lower than expected. Some authors (Giorgetti *et al.*, 1983; Giorgetti *et al.*, 1985; Giorgetti *et al.*, 1986; Lucifero, 1978; Lucifero *et al.*, 1981) locate the reason of these problems in the oscillating and often critical feed availability to which animals assigned to reproduction are submitted. Finally Maremmana breed is characterised by strong seasonality of parities, gathered during the spring period. This behaviour is undoubtedly favoured by the breeding technique but it could also be an index of oestrus seasonality, though not so common in cattle. During the winter period Maremmana calves and heifers seems to show an almost null level of estrogens and a low level of progesterone (Santarelli, 1988): this behaviour lead to hypothesize a strongly reduced gonadotropic activity, with missing heats and autumn-winter anoestrus. Six Maremmana heifers raised in not-critical conditions of feed availability were studied to determine the puberty start and the ovarian ciclicity along the years.

### MATERIALS AND METHODS

Six Maremmana heifers, born during the spring of 1999 (IT053000000471 [471]; IT053000000473 [473]; IT053000000485 [485]; IT053000000486 [486]; IT053000000490 [490]; IT053000000507 [507]), at an average age of around 9 months (281  $\pm$ 17 d) were raised on pen, where they lasted up to around 2 years of age (750 $\pm$ 17 d). Two years could be considered an optimal age to which starts the reproductive activity of the animals. The animals reared on free range were fed with a diet suited for growing females so that the average daily gain could be around 0.600 kg. Such diet with 0.70 Milk F.U./kg d.m. and 121 g of gross protein/kg d.m., was composed by 65-70% of alfalfa and mixed hays, 35-30% of concentrates (80-84% maize and barley) and integrated with mineral elements. Heifers were weekly weighed and submitted to a withdrawal of blood to determine the levels of progesterone and 17-beta-estradiol. Blood samples were collected from jugular vein with 10 ml heparinised Vacutainer tube. Plasma was recovered with centrifugation at 3500 r.p.m. and then frozen to -20°C. Samples were submitted to radio immuno assay technology (RIA). Data were submitted to statistical analysis using the REG procedure of SAS (1989) up to the higher level of

significance. Puberty has been considered reached when the progesterone level was higher than 1 ng/ml plasma in two following withdrawals (Bergfeld *et al.*, 1995). The number of the reproductive cycles occurring along the trial has been calculated and the length of them has been submitted to ANOVA following GLM procedure of SAS (1989) in order to determine the cyclicity and the regularity of oestrous.

## RESULTS AND DISCUSSION

Puberty was reached 83% of the times during the trial. Thus this 5 heifers reached the puberty at around 510 days of age (17 months), far enough to the value of 12-13 months reported for beef cattle (Bergfeld *et al.*, 1995; Patterson *et al.*, 1992). Lower ages at puberty were related for zebu x dairy cattle, zebu x beef cattle and East African zebu (Galina & Arthur, 1989). Higher values were reported for Sahiwal females (Thair *et al.*, 1983), Ongole zebu (Rao e Rao, 1981), Brahaman (Plasse *et al.*, 1968) and Criollo cattle (Ordonez *et al.*, 1974; Linares *et al.*, 1974). Similar ages at puberty were related in Holstein or Jersey x Sahiwal crosses (Thair *et al.*, 1983) and Brahaman x Shorthorn (Plasse *et al.*, 1968). The reference to the taurine breeds raised in tropical or sub-tropical environments or even to the zebuine breeds (*Bos indicus*) is justified by the fact that reproductive parameters and herds' breeding policies of rustic and not well-known breeds are more similar to the former than to those known for specialised breeds. Progesterone haematic levels show the typical oscillating trend (figure 1), with a significant linear regression when considered in relation to the age ( $Y=-2.677+0.00725x$ ;  $P<0.01$ ;  $DSR=1.868$ ;  $R^2 \text{ adj.}=0.221$ ) as already stated by Santarelli (1988). Considering the number of days that, starting from puberty, pass from two subsequent progesterone peaks it is possible to estimate the length of the cycle and its cyclicity. The trial includes on average 9 cycles linked to the oestrus appearance. Cycles are on average 20.2 days of length and could be hypothesised a regular repetition of them. Also the 17-beta-estradiol show the classic pattern of the steroidal hormones with fluctuating trend (figure 2), with a significant linear and positive regression when considered in relation to the age of animals ( $Y=-0.8665+0.00275x$ ;  $P<0.01$ ;  $DSR=1.419$ ;  $R^2 \text{ adj.}=0.069$ ). Observing the figures 1 and 2, except for the heifers that didn't show the heat, it could be noted that the oestrus are compatible with the normal reproductive activity of the herds and all the heifers could be mated starting from 24 months of age. This could allow to anticipate the reproductive activity of one year. The regular gonadotropic activity during the months following the puberty allows to discard the hypothesis of winter anoestrus. The performances obtained at 2 years of age, as already related by Santarelli (1988), are strictly connected to feeding regime: since it is verified the reproductive potential even during the winter and discarding the hypothesis of an anoestrus due to temperature and/or photoperiod, the reduced gonadotropic activity reported by Santarelli (1988) has to be related solely to the low availability of food and above all to the low quality of them immediately after the mating period. Particular attention could be given to feed integration during the winter period. Finally, the breeder has to assure the fulfilment of the nutritive requirements even during the periods of low pasture availability in order to be able to put the heifers for mating at 24 months of age.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Research supported by ARSIA – Toscana and Comunità Montana Colline Metallifere funds.