

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS ARAÇATUBA

EFEITOS DA SOMATOTROFINA RECOMBINANTE
BOVINA NA PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE

David Giraldo Arana

Médico Veterinário e Zootecnista

Araçatuba – SP

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS ARAÇATUBA**

**EFEITOS DA SOMATOTROFINA RECOMBINANTE
BOVINA NA PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE**

David Giraldo Arana

Orientador: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Araçatuba – SP

2015

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DAVID GIRALDO ARANA nascido no dia 11 de abril de 1989, no município de Tuluá-Valle del Cauca, Colômbia. Realizou o ensino fundamental na escola José Antonio Paez–La Marina, e o ensino médio no instituto de Ensino Concentración de Desarrollo Rural La Marina. Ingressou no curso de Medicina Veterinária e Zootecnia pela Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias e formou-se em 2012. Durante a graduação foi monitor das disciplinas de microbiologia e cirurgia durante os períodos de junho de 2007 a maio de 2008 e janeiro a maio de 2009 respectivamente e recebeu o reconhecimento de “Matricula de Honor” no ano de 2009. Ocupou a 4ª melhor nota na prova nacional “Examen de Calidad de Educación Superior” (ECAES) do ano 2011. Em agosto de 2012, ingressou no mestrado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba no programa em Ciência Animal, na área de concentração Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, sob orientação do Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira, com ênfase em fisiologia da reprodução e manipulação da puberdade de novilhas Nelore, sendo o projeto de pesquisa financiado pela Fapesp através do auxílio à pesquisa (FAPESP, 2012/18090-3). Foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) nos primeiros seis meses do mestrado e bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, 2012/14368-7) durante o último ano e meio.

EPÍGRAFE

*“Sea legal, sea correcto,
no consigue plata, pero tampoco se fracasa.”*
(Andrés Bétancourt).

*“Nunca tenha certeza de nada,
pois a sabedoria começa com a dúvida.”*
(Sigmund Freud.)

DEDICATORIA

Dedico

Aos meus pais, Jorge Giraldo Betancourt e Martha Cecilia Arana de Giraldo, por serem meu melhor exemplo e os melhores pais que alguém possa ter;

Aos meus irmãos Dorangela, Lorena e Esteban, grandes joias da minha vida.

Com vocês qualquer coisa se torna possível!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida, dificuldades e alegrias, todas estas, oportunidades de crescimento, evolução e formação de caráter.

Aos meus pais, Jorge e Martha, pelo incondicional e incalculável amor, por estarem sempre ao meu lado, me ensinando o caminho do bem, sem poupar esforço algum na educação e felicidade minha e dos meus irmãos. Vocês sempre serão meus heróis!

Aos meus irmãos, Dorangela, Lorena e Esteban, pelas brigas, risadas, tristezas, confidências e sonhos, mas sobre tudo pela parceria inacabável e incondicional, maior demonstração de amor possível. Me orgulho infinitamente de ter vocês como irmãos!!!

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA-UNESP), e ao programa de pós-graduação em Ciência Animal, por me receber e proporcionar a realização desse projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira, por ter me aceitado como orientado, pela oportunidade de crescimento, e por me permitir explorar as minhas capacidades em todo momento. Muito obrigado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos durante os primeiros meses de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos (2012/14368-7) e do financiamento do projeto (2012/18090-3) tornando possível a execução deste trabalho.

À fazenda Guarita e todos os funcionários envolvidos nos trabalhos, Taina, Jose, Fernando, Ronaldo, William, Durvalino, seu Carlos e seu Zé, por me abrir as portas e me permitirem executar este trabalho com vocês. Ficarei agradecido para sempre.

À Profa. Dra. Cláudia Maria Bertan Membrive e Profa. Dra. Flavia Lombardi Lopes por terem participado da banca de qualificação e pelas contribuições, muito obrigado.

À Profa. Dra. Silvia Perri pelas análises estatísticas durante o experimento.

Ao professor Luis Fernando Uribe Velásquez, por aceitar me orientar durante a graduação e me ajudar a escolher novos caminhos. Muito obrigado.

À equipe do Laboratório de Endocrinologia Animal, por me ajudarem sempre que possível, mesmo que sem tempo. À Devani por dosar com tanto carinho as minhas amostras; Sarita pela disposição para me ajudar sempre nas duvidas do português; Marcos Maioli pela dosagem do IGF-I; Bia pela ajuda dentro do laboratorio, Juliana Stephani de Souza pelas muitas vezes que deixastes de fazer as tuas coisas por ir comigo na fazenda, ahhhh, também pela atolada no meio do caminho; ao Rafael Cipriano pelo arranjo da fazenda. Estarei agradecido por sempre.

Ao mestrando Iderlipes Carvalho e ao residente Thiago Rafael Miyake Pini, por sempre se prontificar para me ajudar nos trabalhos de campo, Obrigado.

À IC Tamiris Sayuri Aguiar e à PhD Cassia Orlandi, por me ajudar sempre no curral e no laboratório, MUITÍSSIMO obrigado.

À professora Suely Bomfim e à residente Danielle Gonçalves, pela dosagem da glicose.

Aos estudantes de Medicina Veterinária da FMVA, carcaça, betinho e cotoco e, ao Medico Veterinário, Leandro Pavanello, pela ajuda no curral.

À Devani Mariano Pinheiro, minha MÃE no Brasil, pessoa fantástica e inigualável, exemplo de dedicação e amor ao trabalho. Muito obrigado pelas muitas broncas (muitas mesmo), pela paciência (que não foi pouca) ensinamentos, parceria e sobre tudo pelo imenso carinho que me destes, te adoro!!!

À Daniela Matono, “a japa”, pelas conversas intermináveis (tu falas mesmo hein!!!), carinho e paciência. Tu és uma pessoa fantástica!

Aos meus TRUTAS Rafa, Marcos, Carol e Jú, obrigado pelos muitos momentos de alegrias, pelos churrascos, cervejas, cachorros quentes, peixinhos e muitas risadas. Todo dia me orgulho de ter vocês como amigos.

E finalmente à vida, por me permitir aprender da melhor maneira possível que em todo lugar há pessoas maravilhosas, olha só, agora tenho novos conhecidos, novos amigos, novos irmãos e até uma segunda mãe.

GRACIAS TOTALES!!!

SUMÁRIO

1	Introdução	18
2	Revisão De Literatura	20
2.1	Importância Da Idade À Puberdade.....	20
2.2	Fatores Que Afetam A Puberdade.....	22
2.3	Escore De Condição Corporal E Espessura Da Gordura Subcutânea	24
2.4	Sistema somatotrófico e o efeito sobre a puberdade.....	27
3	Hipóteses	32
4	Objetivos	33
4.1	Objetivo geral	33
4.2	Objetivos específicos.....	33
5	Material e métodos	34
5.1	Local do experimento e animais	34
5.2	Tratamento	34
5.3	Avaliação por ultrassonografia e ocorrência da puberdade.....	35
5.4	Ganho de peso e espessura da gordura subcutânea.....	36
5.5	Estação de monta.....	36
5.6	Coleta de sangue e ensaios hormonais.....	38
5.7	Análise estatística.....	40
6	Resultados e discussão	41
6.1	Puberdade	41
6.2	Espessura da gordura subcutânea	44
6.3	Diâmetro folicular.....	46
6.4	Ganho diário De peso.....	47
6.5	Glicose e insulina.....	49
6.6	Hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I).....	51
6.7	Leptina.....	53

6.8 Desempenho na primeira estação de monta	55
7 Conclusões	57
8 Considerações finais.....	58
9 Referências.....	59

LISTA DE ABREVIÇÕES

%= porcentagem

MS= matéria seca

°C= graus Celsius

BE= benzoato de estradiol

CA= controle alto

CB= controle baixo

CE= Circunferência escrotal

CL= corpo luteo

CV= coeficiente de variação

d= dia

DIB= dispositivo intravaginal

dL= decilitros

DP= desvio padrão

ECC= escore de condição corporal

EDTA= ácido etilenodiaminotetracético

EGS= espessura da gordura subcutânea

EGSC= espessura da gordura subcutânea entre 12^a e 13^a costela

EGSG= espessura da gordura subcutânea na garupa

EM= estação de monta

FSH= hormônio folículo estimulante

g= grama

GH= hormônio de crescimento

GHRH= fator liberador do hormônio de crescimento

GHIH= somatostatina

GHR 1A= receptor do hormônio de crescimento

GHS-R= receptor do secretagogo do hormônio de crescimento

GnRh= hormônio liberador de gonadotrofinas

h^2 = herdabilidade

IATF= inseminação artificial em tempo fixo

IGF-I= fator de crescimento semelhante à insulina tipo I
IGFBPs= proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina
IGFBP2= proteína ligadora do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 2
IM= intramuscular
kDa= quilodalton
kg= quilograma
LH= hormônio luteinizante
mg= miligrama
MHz= mega-hertz
mL= mililitro
mm= milímetro
NaF= fluoreto de sódio
ng= nanograma
NPY= neuropeptídeo Y
r= coeficiente de correlação
RIA= radioimunoensaio
rbST= somatotrofina bovina recombinante
RNAm= RNA mensageiro
rpm= rotações por minuto
SAS= statistical analysis system
UI= unidade internacional
vs= versus

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1- Taxa de prenhez apos IATF segundo o numero de serviços e tratamento em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15).....	56

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1- Médias de quadrados mínimos para peso aos 205 dias de idade segundo o mês de nascimento do bezerro.....	23
FIGURA 2- Dinâmica de deposição dos tecidos do corpo do bovino no período pós-natal.....	26
FIGURA 3- Regulação da secreção do hormônio de crescimento.....	29
Figura 4- Local anatômico e imagem de ultrassom para medição da espessura da gordura subcutânea na garupa em novilhas Nelore.....	36
FIGURA 5- Local anatômico e imagem de ultrassom para medição da espessura da gordura subcutânea entre 12 ^a e 13 ^a costela em novilhas Nelore.....	37
FIGURA 6- Esquema do protocolo de IATF utilizado em novilhas Nelore (BE= benzoato de estradiol; eCG= gonadotrofina coriônica equina).....	38
FIGURA 7- Porcentagem de novilhas Nelore que ovularam em função da idade (dias) e receberam a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) rbST (250mg; n=7) ou solução salina (2,5 mL; n=7).....	41
FIGURA 8- Peso corporal (kg) estimado próximo à puberdade em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=7) ou solução salina (2,5mL; n=7; Média ± DP).....	43
FIGURA 9- Variação da espessura (mm) da gordura subcutânea entre a 12 ^a e 13 ^a costela (EGSC) através de medição ultrassonográfica, em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15; Média ± DP).....	44

FIGURA 10- Variação da espessura (mm) da gordura subcutânea na garupa (EGSG) através de medição ultrassonográfica, em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL;n=15)..... 45

FIGURA 11- (A) Ganho diário de peso (g/dia) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15). (B) Pluviosidade (mm) na fazenda Guarita durante o período de tratamento de novilhas Nelore com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15). (Média ± DP)..... 48

FIGURA 12- Concentração de glicose (mg/dL) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15; Média ± DP)..... 50

FIGURA 13- Concentração de insulina (UI/mL) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15)..... 51

FIGURA 14- Concentrações plasmáticas médias de GH e IGF-I (ng/mL) durante 10 meses em amostras colhidas 14 dias apos o tratamento com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15) em novilhas Nelore entre 12 e 22 meses de idade. (Média ± DP)..... 52

FIGURA 15- Concentração de leptina (ng/mL) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15). A região mais clara corresponde à época de chuvas, e consequentemente mais oferta de forragem; a região mais escura corresponde à época de seca, e consequentemente menor oferta de forragem..... 54

EFEITOS DA SOMATOTROFINA RECOMBINANTE BOVINA NA PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo avaliar diferenças na idade e peso à puberdade entre novilhas Nelore (260 ± 34 kg; 12 ± 1 meses de idade) tratadas com salina ($n=15$) ou somatotrofina bovina recombinante (rbST; $n=16$) a cada 14 dias desde os 12 até os 22 meses de idade, ou até atingir a puberdade. Adicionalmente, verificamos o efeito do rbST sobre o crescimento, o revestimento de gordura subcutânea, as concentrações plasmáticas de GH, IGF-I, leptina, glicose e insulina, e a taxa de prenhez na primeira estação de monta. Todas as novilhas foram mantidas à pasto no mesmo piquete e foram expostas durante todo o experimento a um rufião com buçal marcador. O peso corporal e a espessura da gordura subcutânea foram mensurados a cada dois meses durante o período experimental. Avaliação por ultrassom dos ovários para monitorar a presença de CL e amostras de sangue foram coletadas a cada 14 dias para quantificações hormonais. Não houve efeito do tratamento ($p \geq 0,05$) na idade e peso à puberdade, ou taxa de prenhez na primeira estação de monta. A espessura da gordura subcutânea entre a 12^a e 13^a costela não foi alterada pelo tratamento ($p \geq 0,05$), no entanto a espessura da gordura subcutânea na garupa foi menor nas novilhas do grupo rbST aos 18 ($p=0,04$) e 22 ($p < 0,01$) meses de idade. Não houve efeito de tratamento ($p \geq 0,05$) sobre o ganho de peso e as concentrações plasmáticas de glicose, GH e IGF-I. O diâmetro do maior folículo foi menor nos animais do grupo salina aos 12 meses de idade ($p=0,01$) e se correlacionou com a concentração de IGF-I no grupo rbST ($r=0,13$; $p=0,05$). No grupo salina a concentração de leptina foi maior aos 12,7 ($p=0,02$), 13,4 ($p=0,01$), 14,3 ($p=0,04$) e 16,2 ($p=0,03$) meses de idade e a concentração de insulina foi maior aos 20,1 meses de idade ($p=0,06$). Em resumo, o tratamento prolongado com 250 mg de rbST não alterou a idade ou peso à puberdade, concentrações plasmáticas de glicose, GH e IGF-I, no

entanto diminuiu o revestimento de gordura subcutânea e leptina, aumentou as concentrações plasmáticas de insulina. Evidenciou-se que o tratamento com rbST não afetou a taxa de prenhez na primeira estação de monta.

Palavras-Chave: precocidade, IGF-I, leptina, ovário, hormônio.

EFFECTS OF RECOMBINANT BOVINE SOMATOTROPIN ON PUBERTY OF NELLORE HEIFERS

ABSTRACT - The present experiment evaluated differences in age and weight at puberty between Nellore heifers (260 ± 34 kg; 12 ± 1 months old) treated with saline ($n=15$) or recombinant bovine somatotropin (rbST; $n=16$) every 14 days from 12 until 22 months of age or until puberty attainment. Additionally, we assessed the effect of rbST in subcutaneous fat thickness, plasma GH, IGF-I, leptin, glucose, insulin, and pregnancy in the first breeding season. All heifers were maintained on the same pasture and exposed to a teaser bull with a neck-marker device. Heifers body weight and subcutaneous backfat thickness were obtained every two months, ovaries were evaluated by ultrasound and blood samples collected every 14 days to monitor the presence of CL and plasma hormones concentration. There was no effect of treatment ($p\geq 0.05$) on age and weight at puberty or pregnancy in the first breeding season. The backfat thickness between the 12th and 13th rib was not affected by treatment ($p\geq 0.05$), however the rump backfat thickness was lower in rbST heifers at 18 and 22 months (respectively, $p=0.04$; $p<0.01$). Treatments had no effect ($p\geq 0.05$) on weight gain, plasma glucose, GH and IGF-I. The diameter of the largest follicle was smaller in animals of the saline group at 12 months of age ($p=0.01$) and was correlated with plasma IGF-I in the rbST group ($r=0.13$; $p=0.05$). In the saline group, leptin concentration was higher at 12.7 ($p=0.02$), 13.4 ($p=0.01$), 14.3 ($p=0.04$) and 16.2 ($p=0.03$) months, and insulin concentration was increased at 20.1 months of age ($p=0.06$). In summary, prolonged treatment with rbST did not change the weight or age at puberty, plasma glucose, GH and IGF-I, however it decreased subcutaneous fat and insulin, increased leptin concentration. It was demonstrated that treatment with rbST did not affect pregnancy in the first breeding season.

Keywords: precocity, IGF-I, leptin, ovary, hormone.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui cerca de 209,79 milhões de bovinos, apresentando cerca de 76,12 milhões de fêmeas (62,6 milhões de vacas e 13,5 milhões de novilhas \geq 24 meses) em idade reprodutiva no rebanho de corte, sendo a Nelore, a principal raça de corte criada no país, correspondendo a 80% do rebanho brasileiro (ANUALPEC, 2013).

A manifestação da puberdade entre as diferentes espécies de bovinos (*Bos taurus* e *Bos indicus*) ocorre em diferentes idades. Raças como a Holandesa iniciam a puberdade aos 12 meses de idade (GLENCROSS, 1984) e raças *Bos indicus* como a Nelore, são mais tardias e em média iniciam a atividade reprodutiva a partir dos 24 meses de idade (ROBINSON, 1977).

A idade à puberdade tardia das novilhas zebuínas é um fator que compromete a produtividade e é um ponto a ser considerado quando se busca maior rendimento desses animais (NOGUEIRA, 2004). A redução da idade à primeira estação de monta em novilhas de corte é um objetivo necessário em sistemas pecuários mais produtivos e deve ser buscado em condições bioeconômicas adequadas (ROSA, 2010).

O estado metabólico do animal tem função crítica no início da puberdade, devido ao fato que hormônios como a leptina (MAQUIVAR, 2011) e o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) influenciam os neurônios secretores do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), permitindo a ocorrência da puberdade (FORTES et al., 2012). Entretanto, o papel específico de cada um desses hormônios no processo da puberdade ainda não foi suficientemente esclarecido.

Em pesquisa previa realizada pelo grupo (BELTRAN, 2007), foi observado maiores concentrações de IGF-I, mas semelhantes concentrações de leptina em animais que alcançaram a primeira prenhez antes dos 16 meses de idade, comparado à novilhas não prenhas antes dos 16 meses de idade.

Sugeriu-se que o IGF-I é mais importante do que a leptina na determinação da precocidade sexual. Com a aplicação de somatotrofina bovina recombinante (rbST) gerou-se um modelo experimental com maiores concentrações plasmáticas de IGF-I, menor deposição de gordura e conseqüentemente menores concentrações plasmáticas de leptina quando comparadas com novilhas que recebem salina (COOKE et al., 2013).

Há vários relatos de estudos em bovinos taurinos onde foram discutidos os efeitos do tratamento com rbST sobre a idade e peso à puberdade de novilhas. Assim, podem ser citados os trabalhos de Murphy et al. (1991); Hawkins et al. (1992); Hall et al. (1994); Buskirk et al. (1996); Radcliff et al. (1997) e Cooke et al. (2013), no entanto, ao nosso conhecimento não há estudos publicados que tenham avaliado o efeito do tratamento com rbST sobre a idade ou peso à puberdade em zebuínos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da idade à puberdade

O índice reprodutivo está relacionado diretamente com a taxa de prenhez, parição, intervalo entre partos e desmama anual, fatores que determinam a eficiência da exploração da pecuária no Brasil (EMERICK et al., 2009). Particularmente a idade à puberdade, tem um impacto importante na eficiência reprodutiva e econômica do rebanho e da vida reprodutiva da vaca (LARSON, 2007; FUNSTON et al., 2012), sendo o fator com maior relevância sobre o desempenho da fêmea a sua primeira estação de monta (DAY; ANDERSON, 1998), que, por sua vez, além de ser dependente de idade mínima, também está relacionada com genética, sanidade e nutrição (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

Os manejos para produzir novilhas de reposição se concentram em conhecer os processos fisiológicos que determinam a primeira ovulação. Melhorias nutricionais visando redução da idade à puberdade podem contribuir para o aumento na vida reprodutiva do animal e conseqüentemente a produção de maior número de bezerros, com benefícios para toda a cadeia produtiva (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007), porém, determinar a idade à puberdade de novilhas é um procedimento muito complexo e dispendioso (NOGUEIRA, 2004).

A idade à puberdade pode ser estimada pela idade ao primeiro parto (NOGUEIRA, 2004), porém, no Brasil a idade ao primeiro parto pode não ser uma fonte de informação adequada para avaliar a idade à puberdade, em virtude que o ponto de referência para incluir as novilhas na estação de monta é o peso corporal (AZEVEDO et al., 2006)

O peso recomendado pelo National Research Council - NRC (1996) para novilhas *Bos taurus* ao início do primeiro período reprodutivo é de 60% do peso corporal maduro e 65% para novilhas *Bos indicus*. No Brasil, a maior parte da produção bovina de corte está fundamentada em sistemas de

pastagens formadas por espécies do gênero *Brachiaria*, com elevado teor de fibra indigerível e teores de proteína bruta inferiores ao nível crítico, 6 a 7% da matéria seca (MS) durante a estação seca (REIS et al., 2005), comprometendo assim o ganho de peso durante a fase de recria das novilhas, o que pode ir a detrimento da idade, e que possivelmente fará uma superestimação da idade ao primeiro parto (AZEVEDO et al., 2006).

A diminuição da idade para introdução de novilhas à primeira estação de monta pressupõe uma melhoria na fase de recria das bezerras, fato este que muitas vezes inviabiliza economicamente o sistema pelo aumento dos custos de suplementação e elevada perda de bezerros pelo aumento de partos distócicos (GOTTSCHALL et al., 2008). A redução da idade à primeira estação de monta em novilhas de corte é um objetivo de sistemas de produção mais produtivos e deve ser procurado em condições bioeconômicas adequadas (ROSA, 2010).

O período entre o nascimento e a primeira parição representa grande demanda de investimento para o sistema produtivo, visto que durante esse período existem gastos com alimentação, sanidade e mão de obra, pelo que uma menor idade à puberdade proporciona maior lucro pela redução dos custos de manutenção das novilhas (MACHADO et al., 2001). A inclusão de novilhas em idade mais jovens a reprodução resulta em redução de categorias improdutivas, visto que a fase de recria segura os bovinos por período de 12 a 36 meses dentro do ciclo produtivo (ZERVOUDAKIS et al., 2002).

Outra vantagem adicional da diminuição da idade à primeira estação de monta, é o encurtamento do intervalo entre gerações, o que propicia maior avanço genético (RESTLE et al., 1999; BERETTA et al., 2002; ROCHA; LOBATO, 2002) ou, ainda, maior desfrute ocasionado pela maior permanência da vaca no rebanho (NEPOMUCENO, 2013). Nesta ordem de ideias, a precocidade pode ser entendida como a velocidade em que o bovino atinge a puberdade, ocasião em que o mesmo completa o crescimento ósseo e a maior parte do conjunto da musculatura. (SILVEIRA et al., 2011).

A idade à puberdade e conseqüentemente a idade ao primeiro parto influencia a lucratividade da pecuária nacional, já que afeta diretamente a taxa de desfrute (BERETTA et al., 2002), a qual mede a capacidade do rebanho em gerar excedente, ou seja, representa a produção (em arrobas ou cabeças) em um determinado espaço de tempo em relação ao rebanho inicial (ALVES, 2012). Quando o primeiro parto ocorre aos quatro anos de idade, a taxa de desfrute do rebanho é em torno de 10% e este índice é quase duplicado quando o primeiro parto ocorre aos três anos. Já quando o primeiro parto ocorre aos dois anos de idade e a idade de abate dos machos dá-se aos 13/14 meses, a taxa de desfrute é de 40% (BERETTA et al., 2002).

2.2 Fatores que afetam a puberdade

Fatores ambientais e nutricionais influenciam a idade à puberdade de novilhas. No Brasil, a estação (mês) de nascimento afeta o peso a desmama dos bezerros (De SOUZA et al., 2000; Figura 1), fator que influencia diretamente a idade à puberdade de novilhas, já que o peso à desmama está correlacionado negativamente com esta ($r = -0,39$; $p < 0,01$; RESTLE et al., 1999).

A estação de nascimento influencia a idade à puberdade devido ao ciclo de crescimento no período de produção de forragens nas águas, seguido por uma manutenção ou perda de peso no período de escassez de forragem na época da seca, ciclo este, de ganho e perda de peso denominado “efeito sanfona” (GARCIA et al., 2004). A idade à puberdade influencia também o momento de prenhez dentro da estação de monta, situação importante devido a que novilhas que ficam prenhez no início da estação de monta têm maior possibilidade de ficarem prenhez no seguinte período reprodutivo, mantendo assim um baixo intervalo entre partos e produzindo bezerros mais pesados à desmama (MONTEIRO et al., 2013).

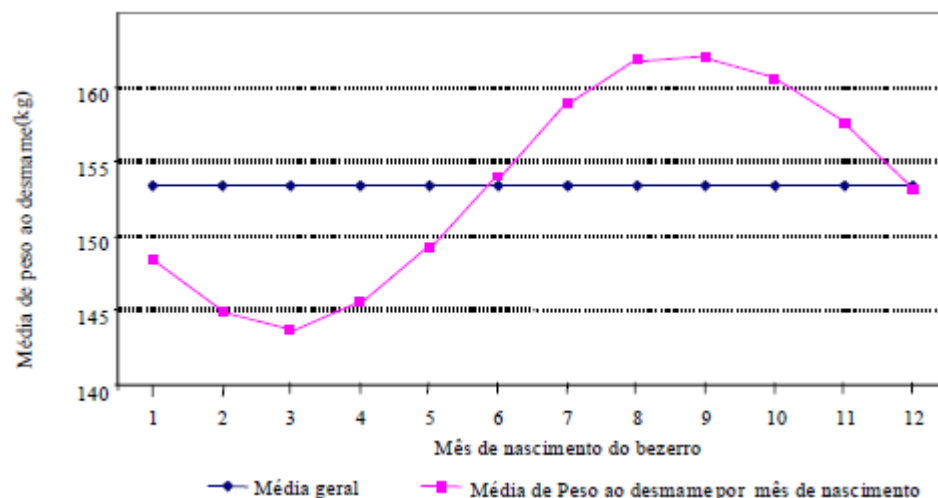


FIGURA 1- Médias de quadrados mínimos para peso aos 205 dias de idade segundo o mês de nascimento do bezerro. Adaptado de De Souza et al. (2000).

Entre os fatores que influenciam a reprodução, a nutrição tem papel reconhecidamente importante por afetar diretamente aspectos fisiológicos e desempenho reprodutivo na fêmea bovina (BAGLEY, 1993; HAWKINS et al., 1995; MAGGIONI et al., 2008). A densidade energética da dieta é o fator nutricional que, em curto prazo, provoca maiores alterações na reprodução (BERGFELD et al., 1994), porém a quantidade e tipo de proteína fornecida também tem relevante importância. Desta forma, para um bom aproveitamento tanto de energia quanto de proteína é importante que haja um correto balanceamento entre eles, além de sincronia na taxa de degradação entre as fontes de proteína e energia da dieta (SINCLAIR et al., 2000).

O estatus nutricional pode influenciar a pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH) associado com a puberdade, logo novilhas com maior ingestão de energia e ganho de peso podem entrar na puberdade precocemente (SCHILLO et al., 1992).

Os hormônios e metabólitos associados com ingestão de energia, como glicose, insulina e fator de crescimento semelhante insulina do tipo I (IGF-I), parecem estimular a secreção de gonadotrofinas (LH e hormônio folículo

estimulante; FSH) ao influenciar a atividade secretora do eixo hipotalâmico-hipofisário (SCHILLO et al., 1992), podem aumentar os efeitos dessas gonadotrofinas nas células ovarianas (SPICER; ECHTERNKAMP, 1995) e também diminuir a sensibilidade do hipotálamo a retroalimentação negativa do estradiol (FOSTER, 1988).

A idade à puberdade (novilhas Brahman) e a probabilidade de gestação aos 14 meses em novilhas Nelore são características que apresentam elevada herdabilidade ($h^2=0,42$; VARGAS et al., 1998; $h^2=0,57$ ELER et al., 2002 respectivamente), o que sugere que há uma falha no processo de seleção para esta característica nessa raça (ELER et al., 2002).

A medida da circunferência escrotal (CE) aos 18 meses de idade apresentou correlação genética negativa com a idade à puberdade das filhas ($r=-0,32$), assim, a medida da CE torna-se uma alternativa em relação às características avaliadas diretamente nas fêmeas a realizar seleção indireta para idade à puberdade (VARGAS et al., 1998).

2.3 Escore de condição corporal e espessura da gordura subcutânea

Na bovinocultura, a aparição precoce da puberdade repercute economicamente no sistema de produção, pois as novilhas que apresentam a primeira cria ao redor dos dois anos de idade produzem mais bezerros durante sua vida reprodutiva em comparação com novilhas com primeira cria com três ou mais anos de idade (DIAS et al., 2004). Na puberdade intensifica-se o preenchimento dos adipócitos, ocorrendo a deposição de gordura na carcaça facilitando a terminação dos animais destinados para o abate (SILVEIRA et al., 2011).

A deposição de gordura corporal é um indicador do estatus nutricional (SCHRODER; STAUFENBIEL, 2006), e está relacionada diretamente com a idade à puberdade por intermédio da leptina, que atua como sinalizador da condição corporal do animal ao hipotálamo (SPICER, 2001). Novilhas com maior cobertura de gordura na garupa possuem trato reprodutivo mais

desenvolvido, visto que possuem cornos uterinos, ovários e folículos maiores (LEAFLET, 2001).

A leptina é um hormônio peptídico (16.4kDa), produto do gene da obesidade, é secretado primariamente pelos adipócitos e têm reconhecido papel crítico na regulação do peso corporal pela inibição do consumo de MS e por estimular o gasto de energia (ZHANG et al., 1994).

A leptina pode ativar mecanismos hipotalâmicos, aumentando o número de picos de secreção de LH. A deficiência nutricional em novilhas de corte suprime, no hipotálamo, a geração de picos de secreção de LH atrasando a primeira ovulação (SCHILLO et al., 1992; FOSTER; NAGATANI, 1999 ; RAWLINGS et al., 2003).

A restrição alimentar crônica em novilhas resulta na redução acentuada na secreção de leptina, redução no escore da condição corporal e coincide com a diminuição na liberação de LH. Dessa forma, o estatus metabólico parece ser o fator primário da responsividade do eixo hipotalâmico-hipofisário à leptina em ruminantes (EMERICK et al., 2009).

Há relatos de experimentos que realizaram processos de seleção focados na diminuição da quantidade de gordura na carcaça em raças taurinas, o que teve um reflexo negativo sobre as variáveis reprodutivas em fêmeas. Isto teve implicação no aumento da idade e peso que estas novilhas atingiram a puberdade com redução da fertilidade quando adultas (BERG; WALTERS, 1983; MACNEIL et al., 1984). No entanto, há relatos que não observaram correlação entre a espessura da gordura subcutânea (EGS; 56 dias pós desmame) e a idade à puberdade de novilhas (YILMAZ et al., 2006).

A dinâmica do desenvolvimento dos tecidos acontece cronologicamente em “ondas de crescimento específicos”. A onda de crescimento inicia-se com o tecido nervoso prosseguindo para o tecido ósseo e muscular e, finalmente, o tecido adiposo (OWENS et al., 1993). Dependendo da raça e a sua curva de crescimento (SILVEIRA et al., 2011), o desenvolvimento de cada um destes tecidos pode ser precoce, médio ou tardio (OWENS et al., 1993). O peso maduro (ou peso adulto) é alcançado quando o ganho de peso passa a ser

composto exclusivamente por gordura, não havendo então acréscimos na deposição de proteína, água e minerais (GOULART, 2012; Figura 2).

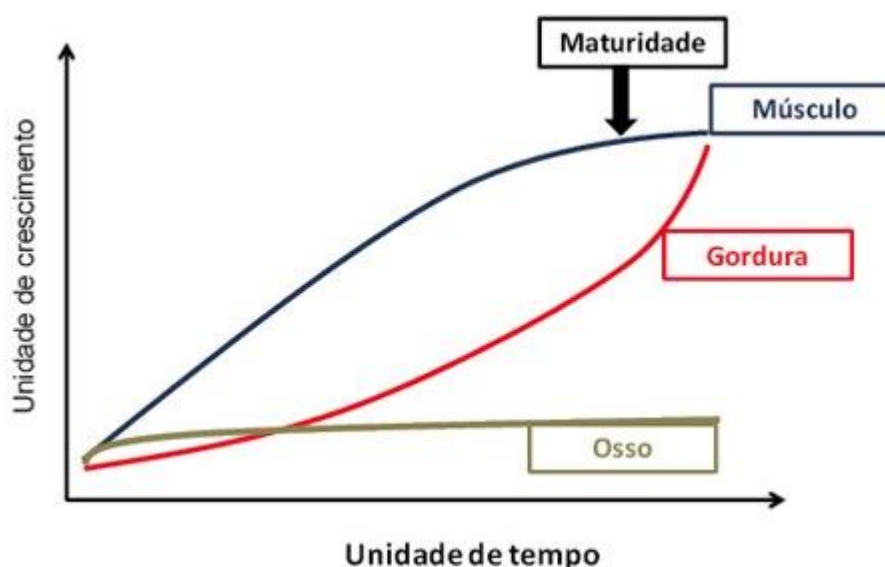


FIGURA 2- Dinâmica de deposição dos tecidos do corpo do bovino no período pós-natal. Adaptado de Goulart, (2012).

A curva de crescimento apresenta três fases diferenciadas quanto ao seu comportamento: Na primeira fase, do nascimento até o desmame, observa um crescimento acelerado; a segunda fase do desmame até o ponto de inflexão da curva (máximo crescimento) representa a desaceleração no crescimento e a fase final representa a estabilização do crescimento ou maturidade (OSPINA-PATIÑO; MEDEIROS, 2003). Quando os bovinos estão próximos da sua maturidade, ocorre uma desaceleração do ganho de peso e inicia-se um aumento na deposição de gordura. Durante este período a ingestão de alimentos é reduzida e a eficiência da alimentação é comprometida (WERTZ-LUTZ et al., 2010).

Dentre as principais causas da baixa eficiência produtiva da maior parte dos rebanhos de cria está o pouco desenvolvimento corporal e o baixo

escore de condição corporal (ECC) das novilhas (LOBATO, 2003). O ECC permite avaliar subjetivamente a quantidade de tecido adiposo depositado e constitui um dos indicadores do estado nutricional que mais se associa com o índice de prenhez (RICE, 1991). Vacas com comprometimento nutricional parecem ser mais sensíveis aos efeitos do “*feedback*” negativo do estradiol (WETTEMANN et al. 2003) e, em novilhas, um baixo ECC retarda a idade do primeiro serviço e condiciona também baixa taxa de prenhez quando primíparas (LOBATO, 2003).

Outras mensurações como o peso corporal, espessura da gordura subcutânea entre a 12^a e 13^a costela (EGSC) e espessura da gordura subcutânea na garupa (EGSG) podem ser realizadas para estimar as reservas energéticas dos animais (SCHRODER; STAUFENBIEL, 2006).

A garupa é a área com maior quantidade de tecido adiposo no subcutâneo do animal, sendo uma área de fácil acesso para realizar a mensuração da EGSG. Sua medida apresenta eficiência semelhante à EGSC (SILVA et al., 2003) e, um operador treinado pode executá-la com alta precisão, agilidade e repetitividade (STOUFFER; CROSS, 1985). A EGSG apresenta correlação positiva com a gordura corporal total ($r=0,90$; SCHRODER; STAUFENBIEL, 2006) e com mensurações de ECC ($r=0,82$ a $0,93$; AYRES et al., 2009).

2.4 Sistema somatotrófico e o efeito sobre a puberdade

O sistema somatotrófico está envolvido em processos reprodutivos que são críticos para a ocorrência da puberdade (ARMSTRONG et al., 1992; BELTRAN, 2007) e o estabelecimento da prenhez (SOSA et al., 2010), regulando a atividade biológica dos ovários (BARCELLOS et al., 2014) e do útero (SOSA et al., 2010).

Há relatos que observaram que a redução da concentração plasmática de IGF-I por meio de imunização contra hormônio de crescimento (GH) atrasou a idade à puberdade (ARMSTRONG et al., 1992), ou experimentos nos quais o aumento na concentração plasmática de IGF-I foi associada com diminuição da

idade à puberdade (HOPPER et al., 1993; YILMAZ et al., 2006), sugerindo que o IGF-I pode ser importante para a maturação sexual em bovinos.

No entanto, o papel do IGF-I na reprodução bovina não pode ser visto isoladamente, ou como um preditor da idade à puberdade (YILMAZ et al., 2006), pois é apenas um componente do sistema do complexo IGF, que atua como um sinalizador indireto da aptidão do animal para que os eventos relacionados à reprodução possam ocorrer decorrentes do status nutricional (JONES et al., 1991). Isto é, em parte, porque o IGF-I não dá nenhuma informação sobre as funções autócrina ou parácrinas e não é o único hormônio capaz de influenciar a reprodução (JONES et al., 1991).

Existe grande variabilidade nas concentrações plasmáticas de IGF-I em novilhas pré-púberes em função da raça (JONES et al., 1991), eficiência alimentar (JOHNSTON et al., 2002) e nível de adaptação ao tropico (CALDWEL et al., 2011) dos animais.

Além disso, a biodisponibilidade de IGF-I é determinada pela concentração de IGF-I livre. As proteínas ligadoras do IGF-I (IGFBPs) são as que definem a biodisponibilidade do IGF-I circulante, deixando sem bioatividade a fração do IGF-I que está ligado a essas proteínas (FORTES et al., 2012). Além disso, as IGFBPs são encarregadas pelo transporte até as células alvo e por aumentar a meia vida do IGF-I (AKERS et al., 2005).

O tratamento com somatotrofina bovina recombinante (rbST) modifica o sistema somatotrófico de uma maneira dinâmica, já que diminui as concentrações de proteína transportadora de IGF-I tipo 2 (IGFBP-2), aumentando a biodisponibilidade do IGF-I, além disso a magnitude da resposta nas concentrações de IGF-I e IGFBP-2 ao tratamento com rbST é maior no período mais próximo da ocorrência da puberdade. Isto pode ser reflexo da maturação do sistema GH/IGF-I em animais pré púberes (RADCLIFF et al., 2004).

A densidade energética da dieta altera as concentrações plasmáticas do GH e do IGF-I, além de modular a concentração da fração livre de IGF-I. Sabe-se que a concentração plasmática de GH está aumentada em novilhas

que consomem dieta com moderada-baixa energia (ganho 0,7kg/d) quando comparadas com novilhas com elevado consumo de energia (ganho 1,2kg/d; BUSKIRK et al., 1996; CHELIKANI et al., 2009).

A secreção pulsátil do GH em condições fisiológicas é controlada por um complexo sistema regulador composto por três hormônios que atuam no hipotálamo: Fator liberador de GH (GHRH), somatostatina (GHIH) e Ghrelina. O GHRH é o principal estimulador da síntese de GH, enquanto a somatostatina é um potente inibidor não competitivo da liberação de GH e modula a resposta da hipófise ao GHRH (MULLER et al., 1999). O terceiro regulador da secreção de GH é o Ghrelina, o qual é um forte estimulador da atividade do GH (KHATIB et al., 2014; Figura 3).

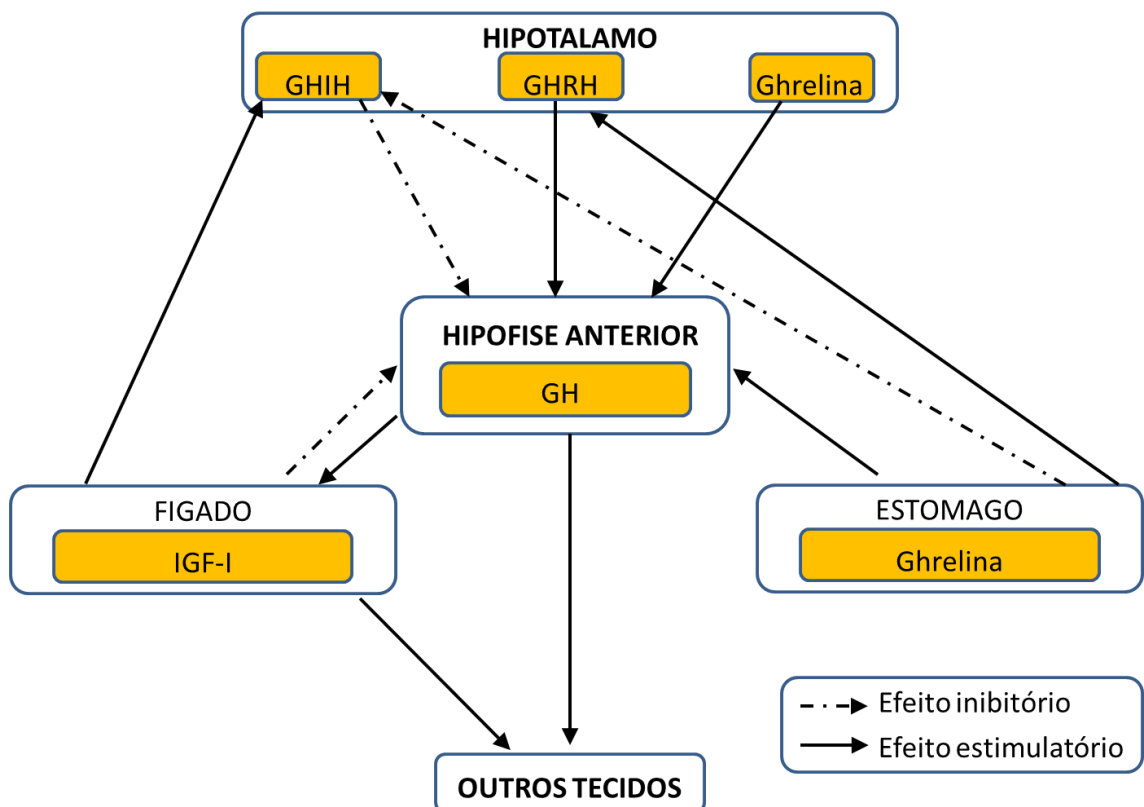


FIGURA 3- Regulação da secreção do hormônio de crescimento. Adaptado de Khatib et al. (2014).

O Ghrelina é um peptídeo bioativo que foi isolado a partir das células do estômago e é um ligante endógeno do receptor do secretagogo do hormônio de crescimento (GHS-R). Sua secreção é regulada por estímulos físicos, químicos ou ambos (KHATIB et al., 2014).

O Ghrelina atua na hipófise e no hipotálamo, aparentemente estimulando os somatotrofos da hipófise anterior (através da interação com o GHS-R) e os neurônios produtores de GHRH, além de inibir os neurônios produtores de GHIH no hipotálamo (GOMES et al., 2013; MARY et al., 2013).

A concentração plasmática de Ghrelina é aumentada em animais que experimentam restrição alimentar prolongada que resulta em perda de peso (WERTZ-LUTZ et al., 2008). Esta diferença é resultado de diferenças no estado metabólico (densidade energética da dieta) e não diferença no consumo de MS (WERTZ-LUTZ et al., 2008; 2010).

Novilhas que recebem dietas com moderada-alta/alta densidade energética (ganho 1000-1200g/dia) apresentam maior concentração plasmática de IGF-I, maior diâmetro folicular e atingiram a puberdade mais cedo do que novilhas que receberam dieta de baixa/moderada-baixa densidade energética (ganho 500-700g/dia; BARCELLOS et al., 2014). O elevado consumo de energia aumenta a expressão de RNAm para o receptor de GH (GHR 1A) no fígado. Maiores quantidades de GHR 1A, melhora a capacidade do fígado de responder ao GH (RADCLIFF et al., 2004).

A expressão de GHR 1A no fígado é dependente de insulina, pois a infusão contínua de insulina aumenta a quantidade de mRNA para GHR 1A e IGF-I no fígado de vacas leiteiras no pós parto (BUTLER et al., 2003), o que explica que dietas com elevado aporte energético favoreçam o sistema somatotrófico. Além disso, a insulina estimula a proteólise das IGFBPs ligadas ao IGF-I, aumentando assim a concentração da fração livre deste, ficando biodisponível para atuar sobre os seus receptores (SPICER et al., 2000; LUCY, 2011). Os efeitos da nutrição sobre a concentração plasmática de IGF-I parecem ocorrer em menores idades na modulação da puberdade, devido às mudanças energéticas (BARCELLOS et al., 2014).

A insulina e o IGF-I são hormônios dependentes do nível de energia na puberdade e podem atuar direta ou indiretamente por meio da captação de glicose pelo ovário modulando assim a atividade reprodutiva (BARCELLOS et al., 2014).

Há um sinergismo entre a insulina e o IGF-I no início do crescimento folicular influenciando assim o desenvolvimento folicular ao início da puberdade. A relação entre a concentração plasmática de IGF-I e a modulação da atividade ovariana, é dada pela estimulação dos receptores de LH e FSH e, posterior desenvolvimento folicular (BARCELLOS et al., 2014).

Os efeitos da nutrição sobre as estruturas ovarianas têm sido demonstradas. Há relação entre a concentração plasmática de IGF-I e o ganho diário de peso sobre o número de novilhas cíclicas no início da primeira estação de monta (BARCELLOS et al., 2014). Baixos níveis nutricionais e, conseqüentemente baixas concentrações plasmáticas de IGF-I, estão associados com diminuição do diâmetro do folículo dominante durante toda a onda folicular (GASSER et al., 2006a,b).

3 HIPÓTESES

As novilhas da raça Nelore tratadas com 250mg de rbST a cada 14 dias de 12 a 22 meses de idade apresentam

- a) maior concentração plasmática de GH, IGF-I, glicose e insulina;
- b) menor deposição de gordura subcutânea e conseqüentemente menor concentração plasmática de leptina;
- c) desenvolvimento folicular (diâmetro do maior folículo) aumentado;
- d) diminuição da idade e peso à puberdade;
- e) maior taxa de prenhez na primeira estação de monta.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Comparar o efeito da diminuição da concentração de leptina e do aumento da concentração de IGF-I na idade à puberdade em novilhas da raça Nelore.

4.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito do tratamento com 250mg de rbST a cada 14 dias de 12 a 22 meses de idade em novilhas pré púberes da raça Nelore sobre:

- a) A variação na concentração de GH, IGF-I, glicose, insulina e leptina;
- b) A variação na deposição de gordura subcutânea;
- c) A variação do diâmetro do maior folículo;
- d) A variação da idade e peso à puberdade;
- e) A variação da taxa de prenhez na primeira estação de monta.

5 MATERIAL E METODOS

Todos os procedimentos experimentais realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” da Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, sob o número de protocolo FOA-1850-2012.

5.1 Local do experimento e animais

O experimento foi realizado na fazenda Guarita, localizada no município de Araçatuba, São Paulo, Brasil, 21° 00'25'' de latitude sul, 50°24'04'' de longitude oeste e 380 metros de altitude. As atividades foram realizadas entre outubro de 2012 até agosto de 2013.

Novilhas pré-púberes da raça Nelore (n=31; 259,87±33,88kg; 11,80±1,26 meses de idade) provenientes de rebanho não selecionado para precocidade sexual, foram alocadas em dois grupos homogêneos, rbST e salina, com 16 e 15 animais respectivamente. Para a formação dos grupos foram avaliadas as seguintes características: pai, espessura da gordura subcutânea, peso e idade. As novilhas permaneceram durante todo o período experimental em um único lote, acompanhadas sempre de um rufião com buçal marcador (1:30) em piquetes de *Brachiaria decumbens*, com acesso a suplemento mineral e água *ad libitum*.

5.2 Tratamento

A cada 14 dias durante 10 meses, os animais receberam aplicação por via subcutânea na região da paleta de 250mg de *sterile sometribove zinc suspension* (Lactotropin®) nas novilhas do grupo rbST ou 2,5mL de solução fisiológica nas do grupo salina.

O Lactotropin é um produto comercial utilizado para aumentar a produção de leite de vacas em lactação, já que disponibiliza a energia acumulada em forma de gordura para produção de leite (DOHOO et al., 2003).

A recomendação do fabricante é a aplicação de 500mg a cada 14 dias em vacas adultas, já que a concentração sérica de GH é aumentada de 20 a 30 vezes dois dias após a aplicação do rbST, e vai diminuindo gradativamente até voltar as concentrações basais ao redor do dia 14. Já o IGF-I aumenta 2 a 3 vezes sua concentração dois dias após aplicação, e vai diminuindo gradativamente, mas continuando maior 14 dias após a aplicação, sugerindo que o intervalo de 14 dias entre aplicação permite manter concentrações elevadas de IGF-I durante todo o período (CASTIGLIEGO et al., 2010).

Vacas de alta produção em lactação apresentam um metabolismo mais acelerado e maior depuração hepática de hormônios e medicamentos (WILTBANK et al., 2006) quando comparadas com vacas secas, vacas de corte ou novilhas. A dose de 250mg de rbST foi estabelecida seguindo este raciocínio e baseados nos relatos de outros experimentos publicados (BUSKIRK et al., 1996; COOKE et al., 2013) nos quais esta mesma dose e na mesma frequência foi utilizada.

5.3 Avaliação por ultrassonografia e ocorrência da puberdade

Nos dias de aplicação do tratamento, foi realizada avaliação dos ovários utilizando aparelho de ultrassom GE Logic-100, equipado com transdutor linear transretal de 5,0 MHz para estimar o diâmetro do maior folículo, além da identificação de corpo lúteo (CL).

O critério para identificar o período da primeira ovulação nas novilhas foi a apresentação de estro e consequente marcação do rufião, o qual correspondeu a segunda ovulação (YAVAS; WALTON, 2000). O dia anterior aos oito dias prévios à marcação do rufião foi considerado como a data da ocorrência da primeira ovulação. A ovulação foi confirmada com a observação de CL por ultrassonografia (ARCHBOLD et al., 2012) e quantificação de progesterona plasmática (≥ 1 ng/mL; NOGUEIRA et al., 2003).

5.4 Ganho de peso e espessura da gordura subcutânea

Aos 12, 14, 16, 18, 20 e 22 meses de idade os animais foram pesados em balança eletrônica (Coimma KM-3), para ser mensurado o ganho diário de peso dentro de cada período. Concomitante as pesagens, foi mensurada a EGSG e a EGSC, utilizando aparelho de ultrassom GE Logic-100 (5,0 MHz) e óleo vegetal como interface entre a pele e o transdutor.

Para EGSG o transdutor foi posicionado linearmente entre o ílio e o ísquio sendo deslocado até o limite superior do *Biceps femoris* (Figura 4). Para EGSC a imagem de ultrassom foi realizada transversalmente no músculo *Longissimus dorsi* na região entre a 12^a e 13^a costela (Figura 5).



FIGURA 4- Local anatômico e imagem de ultrassom para medição da espessura da gordura subcutânea na garupa em novilhas Nelore.

5.5 Estação de monta

Aos 25±1 meses de idade, foi iniciada a estação de monta que teve duração total de 4 meses, entre novembro de 2012 e fevereiro de 2013.



FIGURA 5- Local anatômico e imagem de ultrassom para medição da espessura da gordura subcutânea entre 12^a e 13^a costela em novilhas Nelore.

Todas as novilhas foram submetidas a um primeiro protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF; Figura 6). No dia -8 foi inserido um dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona de terceiro uso (1g; DIB[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) e foi aplicado 2 mg, intramuscular (IM) de benzoato de estradiol (BE; GONADIOL[®], Coopers, Brasil). No dia 0 foi retirado o DIB e aplicado 200 UI, IM de gonadotrofina coriônica equina (FOLLIGON[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) e 0,5mg, IM de D-cloprostenol (CIOSIN[®], MSD Saúde Animal, Brasil). No dia 1 foi aplicado 1 mg, IM de BE (GONADIOL[®], Coopers, Brasil).

Cinquenta e quatro horas após a retirada do implante foi realizada a IATF por um técnico experiente e utilizando sêmen de touros Nelore provenientes de central certificada (CRV Lagoa) e distribuídos homoganeamente entre ambos os grupos.

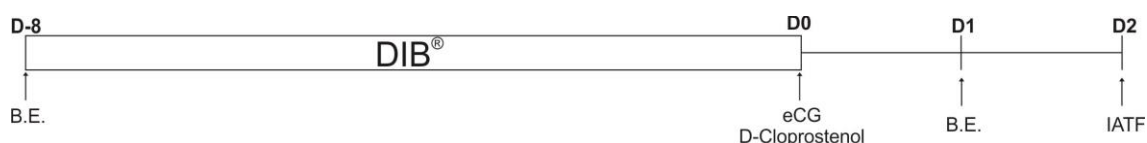


FIGURA 6 – Esquema do protocolo de IATF utilizado em novilhas Nelore (BE= benzoato de estradiol; eCG= gonadotrofina coriônica equina).

Após 30 dias, foi realizado diagnóstico de prenhez por ultrassom utilizando aparelho de ultrassom GE Logic-100 (5,0 MHz) e foi feito um segundo protocolo de IATF em 17 novilhas que não estavam prenhez.

Dez dias após a segunda IATF todas as novilhas foram expostas a touro durante 60 dias (1:15 touro por novilhas) para realizar repasse. Os touros utilizados neste experimento foram avaliados e aprovados por exame andrológico 15 dias antes do início da estação de monta (CBRA, 1998). No final da estação de monta (29 ± 1 meses de idade) foi realizado outro diagnóstico de prenhez e estabelecido as datas de concepção. A taxa de prenhez de cada IATF e/ou repasse foi calculado em base as datas estabelecidas no diagnóstico de prenhez realizado ao final da estação de monta.

5.6 Coleta de sangue e ensaios hormonais

Concomitante a aplicação dos tratamentos, foram coletadas duas amostras de sangue para dosagem das concentrações de GH, IGF-I, leptina, insulina, progesterona e glicose, utilizando tubo a vácuo de 10 mL contendo 20 mg de EDTA e tubo de 4 mL contendo EDTA+NaF (6 mg+12 mg; BD Vacutainer®), as quais foram refrigeradas a 4°C até a separação do plasma em centrifuga refrigerada por 10 minutos a 3500rpm (2665g) e 4°C (Cientec Modelo CT-5000R). Posteriormente as frações do plasma foram aliquotadas em duplicata em tubos de 2mL (Axigen Scientific MCT-200B) e armazenadas em freezer a -20°C até as quantificações hormonais e bioquímica.

A concentração de glicose foi mensurada usando kit comercial por análise colorimétrica (Glicose Liquiform, LABTEST®), controle de qualidade

(Qualitrol 1H, LABTEST[®]) e dosagem de amostra padrão (100mg/dL) a cada 10 análises. O coeficiente de variação intraensaio foi de 1,6% e sensibilidade de 0,28mg/dL.

A concentração de insulina foi obtida utilizando kit comercial de radioimunoensaio (RIA; Human Insulin Specific, MILLIPORE[®]). Foi realizada em todos os ensaios a dosagem de duas concentrações de controle alto (CA; 51,67UI/mL) e dois de controle baixo (CB; 11,83UI/mL). Coeficientes de variação (CV) inter (CA: 9,56% CB: 9,38%) intraensaio (CA: 2,09% CB: 0,78%; CA: 7,68% CB: 1,57%; CA: 1,89% CB: 3,74%; CA: 3,44% CB: 1,89%) e sensibilidade de 1,56UI/mL.

A concentração de leptina foi obtida utilizando kit comercial de RIA (Multi-Species Leptin, MILLIPORE[®]). Usamos como curva padrão a leptina recombinante bovina (laboratório Rehovot-Israel). Foi realizada em todos os ensaios a dosagem de duas concentrações de CA (19,24ng/mL) e dois CB (2,58ng/mL). Coeficientes de variação inter (CA: 9,56% CB: 15,01%), intraensaio (CA: 17,37% CB: 2,33%; CA: 2,02% CB: 2,77%; CA: 8,18% CB: 2,40%; CA: 1,95% CB: 5,54%) e sensibilidade de 0,07ng/mL.

A concentração de GH foi obtida utilizando ensaio *in house* de radioimunoensaio (PARLOW, 2007). Foi realizada em todos os ensaios a dosagem de duas concentrações de CA (7,74ng/mL) e dois CB (1,04ng/mL). Coeficiente de variação inter (CA: 17,25% CB:25,46%), intraensaio (CA: 14,15% CB: 7,60%; CA: 20,10% CB: 5,53%; CA: 18,25% CB: 4,79%; CA: 18,40% CB: 5,81%; CA: 9,77% CB: 1,12%; CA: 15,55% CB: 1,73%; CA: 13,58% CB: 1,61%) e sensibilidade de 0,13ng/mL.

A concentração de IGF-I foi obtida utilizando ensaio *in house* de radioimunoensaio com extração por crioprecipitação com etanol ácido, (adaptado de BREIER et al., 1991). Foi realizada em todos os ensaios a dosagem de duas concentrações de CA (154,94ng/mL) e dois CB (54,55ng/mL). Coeficiente de variação inter (CA: 20,55% CB:18,44%), intraensaio (CA: 9,69% CB: 7,79%; CA: 46,55% CB: 2,82%; CA: 16,90% CB:

4,21%; CA: 11,04% CB: 1,20%; CA: 1,45% CB: 8,09%; CA: 11,17% CB: 0,06%) e sensibilidade de 1,74ng/mL.

A concentração de progesterona foi obtida utilizando kit comercial de RIA (RIA Progesterone, IMMUNOTECH®). Foi realizada em todos os ensaios a dosagem de duas concentrações de CA (8,34ng/mL) e dois CB (0,51ng/mL). Coeficiente de variação inter (CA: 5,25% CB:19,86%), intraensaio (CA: 4,97% CB: 0,63%; CA: 11,00% CB: 0,63%; CA: 2,28% CB: 0,96%; CA: 2,66% CB: 0,14%) e e sensibilidade de 0,08ng/mL.

5.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas por meio do procedimento Mixed do SAS (Statistical Analysis System) com estrutura de covariâncias escolhidas pelo Critério de Informação de Akaike (AIC) e comparações múltiplas das médias com o LSMEANS (Least Squares Means), ajustado para Tukey.

Os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade de variâncias pré-requisitos necessários para a análise de variância e foram transformados em log para análise estatística, mas para a representação gráfica foram utilizados os dados não transformados.

O coeficiente de correlação de Pearson foi usado para medir o grau de associação entre variáveis. Os dados qualitativos foram analisados pelo teste exato de Fisher. Os resultados das análises estatísticas foram apresentados como média e desvio padrão e foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa SAS 9.3 (Statistical Analysis System).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Puberdade

Durante o tratamento, 14 novilhas atingiram a puberdade, 7 animais no Grupo rbST e 7 no Grupo salina. Não foi possível observar diferença na idade à primeira ovulação entre o grupo rbST quando comparado com o grupo salina (593 ± 37 vs 599 ± 42 dias de idade; $p=0,46$ respectivamente; Figura 7).

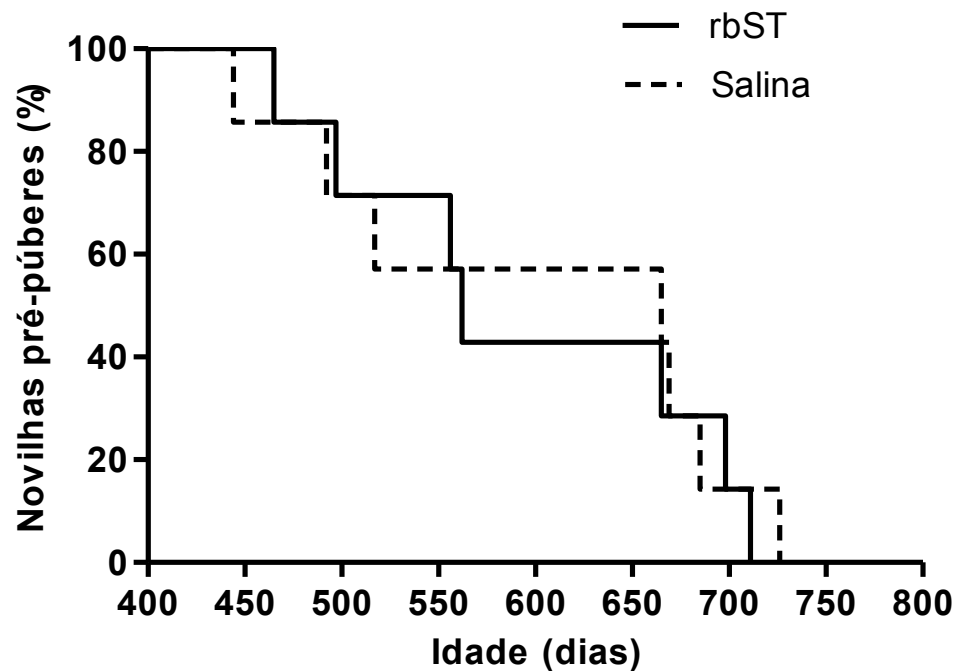


FIGURA 7- Curva de sobrevivência (porcentagem de novilhas Nelore que ovularam) em função da idade em dias e receberam a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) rbST (250mg; n=7) ou solução salina (2,5 mL; n=7).

Foi observado que o tratamento com rbST não alterou a idade a puberdade. Entretanto, em outros estudo verificou-se que o rbST estimula a síntese de IGF-I no fígado, incrementando as concentrações plasmáticas deste (McGUIRE et al., 1992; SHARMA et al., 1994). O IGF-I estimula os neurônios

de GnRH (DAFTARY; GORE, 2004) através da ativação dos neurônios que secretam a kisspeptina, que por sua vez estimula a secreção do hormônio luteinizante (LH; HINEY et al. 2009), o aumento da frequência dos pulsos de LH é o evento crítico para a ocorrência da puberdade em fêmeas bovinas (SCHILLO, 1992).

Os resultados da administração crônica de rbST (350 mg a cada 14 dias, durante 7,5 meses) são conflitantes, em novilhas Angus não alterou a idade ou o peso à puberdade e não afetou a frequência e/ou amplitude dos pulsos de LH (HALL et al., 1994). Em contraste, novilhas da raça Angus que receberam a mesma dose de rbST (250 mg) atingiram a puberdade mais cedo quando comparadas com novilhas controle (COOKE et al., 2013).

O peso à puberdade das novilhas Nelore que atingiram a puberdade durante o experimento não foi alterado pelo tratamento com rbST quando comparado com o grupo salina (394 ± 25 kg vs 411 ± 20 kg; $p=0,31$ respectivamente; Figura 8). Como não houve alteração do peso entre os grupos, é justificável que não exista diferença entre as idades a primeira ovulação. Uma vez que para que a primeira ovulação aconteça o peso corporal é mais importante do que a idade, já que a nutrição inadequada atrasa a puberdade e o aumento da nutrição associada a um rápido crescimento corporal antecipa a ocorrência desta (FOSTER; NAGATANI, 1999).

Tanto a suplementação com alto teor de energia (CARVALHO et al., 2013) quanto com energia e proteína (DAVIS RINCKER et al., 2010) antecipam a idade à puberdade com um menor peso corporal provavelmente por aumento na frequência de pulsos de LH (SCHILLO et al., 1992).

Experimentos semelhantes com tratamento prolongado com rbST, não encontraram diminuição da idade à puberdade em novilhas (BUSKIRK et al., 1996; MURPHY et al., 1991; RADCLIFF, 1997), mas observaram uma tendência (BUSKIRK et al., 1996) ou aumento (RADCLIFF, 1997) do peso à puberdade. Porém o dobro da dose de rbST (500mg/14d) atrasou a idade à puberdade de novilhas Angus x Holandesa (HAWKINS et al., 1992 Apud BUSKIRK et al., 1996).

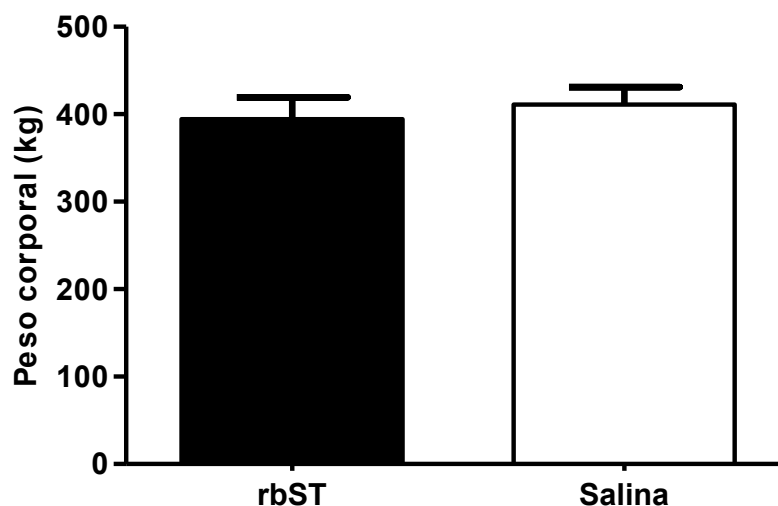


FIGURA 8- Peso corporal (kg) próximo à puberdade estimada em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=7) ou solução salina (2,5mL; n=7; Média \pm DP).

Todos os estudos publicados, que relatam diminuição da idade à puberdade com o uso de rbST, foram realizados em animais *Bos taurus*, cruzamentos ou raças sintéticas com base nestes. Neste experimento, a base racial é *Bos indicus*, além de que o rebanho utilizado tem histórico de puberdade entre 22 a 26 meses. A fisiologia reprodutiva e os mecanismos de ação do IGF-I no ovário são diferentes entre ambas as espécies (SARTORI; BARROS, 2011), o que pode explicar a ausência de resultados equivalente aos observados em bovinos *Bos taurus*.

Em gado Brahman a via de IGF-I é relevante para a idade à puberdade, e mostrou maior importância quando comparado com outros genes avaliados por estudo de polimorfismo único de nucleotídeo (SNP) através de análise de associação genômica ampla (GWAS; FORTES et al., 2012), por outro lado há relatos de que as concentrações séricas de IGF-I apresentaram correlação negativa com a idade a puberdade em novilhas (BELTRAN, 2007; JOHNSTON et al., 2009).

Acreditou-se que o IGF-I por ser um sinalizador do estado nutricional e de crescimento em bovinos (YELICH et al., 1996), tenha uma função semelhante à leptina, não de desencadeador da puberdade em novilhas, mas sim como um sinal permissivo para a ocorrência desta (BARB; KRAELING, 2004; CHELIKANI et al., 2009).

6.2 Espessura da gordura subcutânea

A EGSC não diferiu entre os grupos rbST e salina durante o experimento (Figura 9). Entretanto, a EGSG foi menor no grupo rbST quando comparado com os animais salina aos 18±1 ($5,2 \pm 0,3$ vs $4,5 \pm 0,3$ mm, $p=0,04$) e 22±1 meses de idade ($5,8 \pm 0,3$ vs $4,7 \pm 0,3$ mm, $p<0,01$); aos 16±1 meses de idade foi possível observar tendência à diminuição da EGSG no grupo rbST comparado com o salina ($5,1 \pm 0,3$ vs $4,4 \pm 0,2$ mm, $p=0,07$ respectivamente; Figura 10).

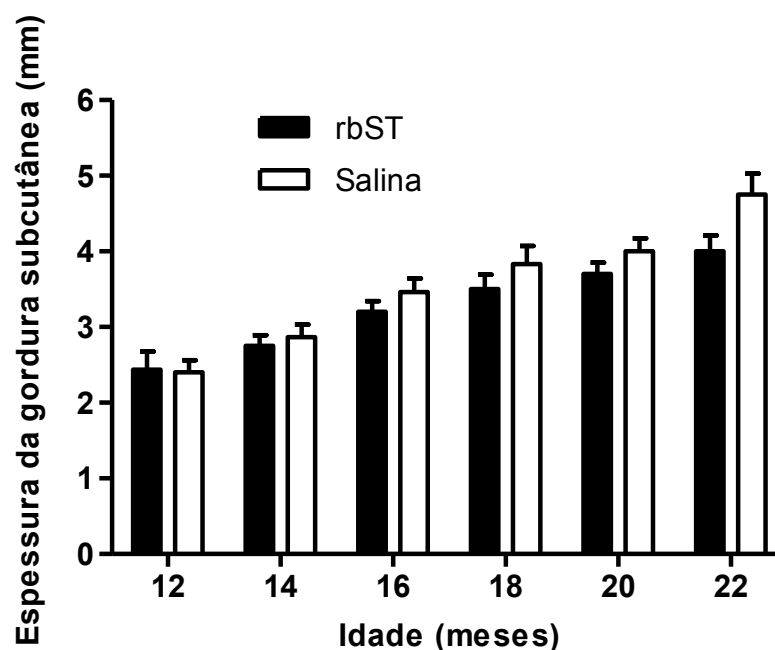


FIGURA 9- Variação da espessura (mm) da gordura subcutânea entre a 12^a e 13^a costela (EGSC) através de medição ultrassonográfica, em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15; Média ± DP).

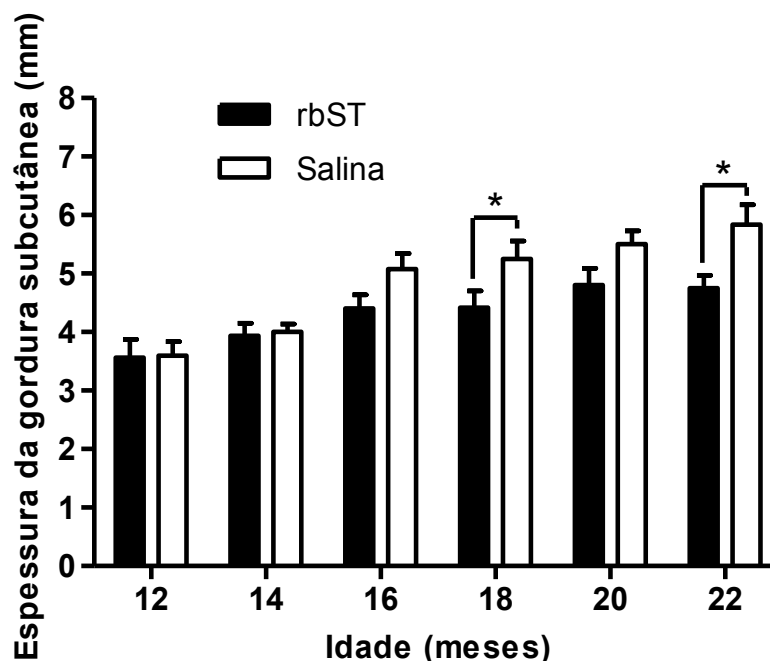


FIGURA 10- Variação da espessura (mm) da gordura subcutânea na garupa (EGSG) através de medição ultrassonográfica, em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15).

*Valores com diferença estatística ($p < 0.05$; Média \pm DP).

Durante o período experimental foi possível observar um aumento na diferença da EGSC e EGSG entre os grupos rbST e salina em função do tempo ($r = 0,89$, $p < 0,01$; $r = 0,89$, $p = 0,02$). A garupa é o lugar com maior espessura de gordura subcutânea no animal (SCHRODER; STAUFENBIEL, 2006), sendo assim a medida da EGSG é mais fácil e apresenta maior repetitividade do que a EGSC, explicando a diferença entre os grupos observada em somente uma das duas variáveis.

A administração de rbST induziu uma repartição de nutrientes, direcionando-os para o músculo a partir do tecido adiposo (ETHERTON; BAUMAN, 1998; BREIER, 1999), o que explica que o tratamento com rbST

diminuiu a espessura da gordura subcutânea (EGS) tanto de novilhas (COOKE et al., 2013) quanto de novilhos (PRESTON, 1995), concordando com o presente resultado. O tratamento com rbST, além de diminuir a EGS, também diminuiu o marmoreio, a gordura cardíaca e renal de novilhos Angus x Limousin (PRESTON, 1995), aumentando assim a proporção de proteína e diminuindo o revestimento de gordura em carcaças de bovinos tratados com rbST (RADCLIFF et al., 1997).

Foi observada correlação positiva entre a EGSC e a EGSG ($r= 0,59$, $p<0,01$), corroborando os resultados de outros estudos (AYRES et al., 2009), onde relatam que a mensuração da EGSG é tão eficaz quanto a EGSC.

6.3 Diâmetro Folicular

O diâmetro do maior folículo foi maior no grupo rbST quando comparado com o grupo salina ($8,69 \pm 0,47$ vs $6,60 \pm 0,48$ mm; $p= 0,01$) aos 12 ± 1 meses de idade, que correspondeu a primeira avaliação depois do início do tratamento.

Bezerras Hereford (EVANS, et al., 1994a) e Nelore (MIGUEL, 2013) com duas semanas de idade já apresentaram o crescimento folicular em forma de onda. Este padrão de crescimento foi observado também em novilhas jovens antes dos oito meses de idade (ADAMS, et al., 1994; MIGUEL, 2013), e alterações na dinâmica folicular foram evidentes a partir de 8 meses de idade à primeira ovulação (EVANS et al., 1994b; MIGUEL, 2013).

As ondas foliculares em novilhas pré-púberes são quantitativamente diferentes das ondas foliculares descritas para novilhas púberes (GINTHER, et al., 1989), sendo todas as ondas anovulatórias para as novilhas pré-púberes e durante a fase de crescimento, também o diâmetro do maior e do segundo maior folículo, é menor em comparação as novilhas púberes (ADAMS et al., 1994).

Seguindo este raciocínio, mesmo que as ondas foliculares de novilhas pré-púberes sejam restritas à fase de crescimento, há variação no diâmetro folicular. Como a mensuração do diâmetro folicular foi a cada 14 dias, os dados

obtidos podem não avaliar precisamente o diâmetro do maior folículo em cada grupo, explicando a ausência de diferença na maior parte do experimento.

Tanto a EGSC quanto a EGSG apresentaram correlação positiva tanto com o diâmetro do maior folículo ($r= 0,29$, $p<0,01$; $r=0,37$, $p<0,01$) quanto com as concentrações plasmáticas de leptina ($r= 0,19$, $p=0,02$; $r= 0,25$, $p<0,01$) durante todo tratamento.

As medidas da EGSG e EGSC podem ser usadas para estimar as reservas energéticas dos animais (SCHRODER; STAUFENBIEL, 2006), com elevada correlação com o escore de condição corporal dos animais (AYRES et al., 2009), explicando a correlação positiva entre a EGS e o diâmetro folicular. Os folículos observados em animais com melhor estatus nutricional são maiores quando comparados à outros em restrição nutricional (MACKEY et al., 2000).

6.4 Ganho Diário de Peso

O ganho médio diário de peso não diferiu entre os grupos rbST e salina durante o tratamento, no entanto, em todos os cinco períodos avaliados, o ganho de peso nas novilhas rbST foi numericamente maior, correspondendo a 11,28% a mais de ganho de peso do que as novilhas que receberam salina (Figura 11A). Há relato de efeito semelhante do tratamento com rbST sobre o ganho de peso (MURPHY et al., 1991). O ganho de peso de novilhas da raça Holandesa tratadas diariamente com 15mg de rbST, não foi diferente estatisticamente, mas sim apresentando ganho de peso numericamente superior correspondente a 9% quando comparado com novilhas que receberam salina.

Em ambos os grupos foi observada diminuição gradativa do ganho de peso em função da idade ($r= -0,96$, $p=0,01$). Em relação ao ganho de peso há relatos, em *Bos taurus*, de que o tratamento com rbST aumentou o ganho de peso (BUSKIRK et al., 1996; RADCLIFF et al., 1997), porém existe relato de ausência de maior ganho (COOKE et al., 2013).

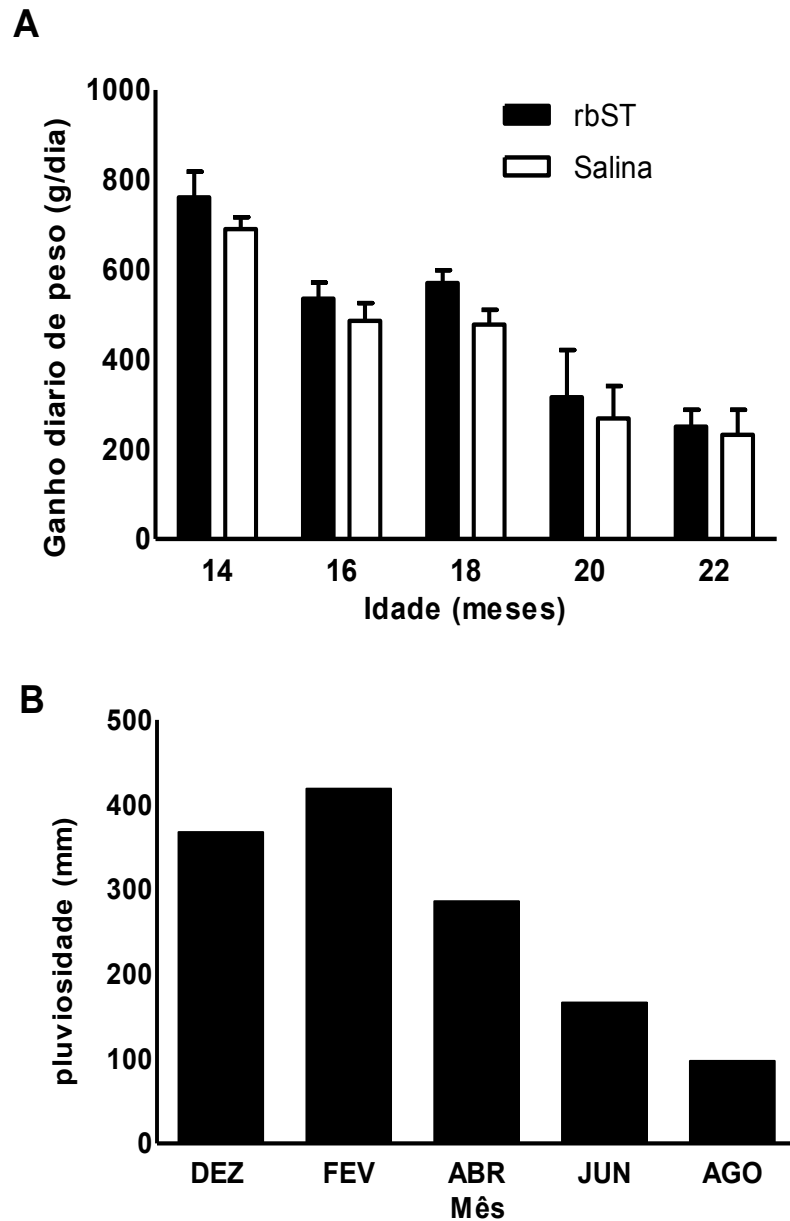


FIGURA 11- (A) Ganho diário de peso (g/dia) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15). (B) Pluviosidade (mm) na fazenda Guarita durante o período de tratamento de novilhas Nelore com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15). (Média \pm DP).

O aumento no ganho médio diário de peso observado em novilhas tratadas com rbST pode ser atribuído ao aumento do consumo médio diário de matéria seca (ENRIGHT et al., 1990), embora há relato de que o tratamento com rbST diminuiu o consumo de matéria seca (PRESTON, 1995) ou aumentou a eficiência de conversão alimentar (PRESTON, 1995; BUSKIRK et al., 1996).

Como os animais estavam a pasto, não foi possível avaliar o consumo diário de matéria seca ou a eficiência alimentar das novilhas, já que não houve suplementação energética ou proteica. No entanto, foi observado maior tendência de ganho de peso em resposta ao tratamento com rbST no período das chuvas quando há maior disponibilidade de forragem, o que significou maior disponibilidade de alimento para os animais (Figura 11B). O uso de rbST aumentou o ganho de peso em novilhas com elevada energia na dieta, mas não foi efetivo em dieta com restrição energética (BUSKIRK et al., 1996).

6.5 Glicose e Insulina

Não houve diferença tanto na média da concentração plasmática de glicose entre os grupos rbST e salina durante o período experimental (90 ± 11 vs $89,6 \pm 10,8$ mg/dL, $p=0,46$ respectivamente); quanto nas medias quinzenais em amostras colhidas antes da aplicação de rbST ($p>0,05$; Figura 12). Como as amostras foram colhidas 14 dias após a aplicação rbST, não houve diferença na concentração da glicose entre os grupos. Foi observado que o tratamento com rbST em novilhas Angus aumentou a concentração plasmáticas de glicose aos 6, 8 e 10 dias, mas não aos 14 dias após a aplicação do rbST (COOKE et al., 2012).

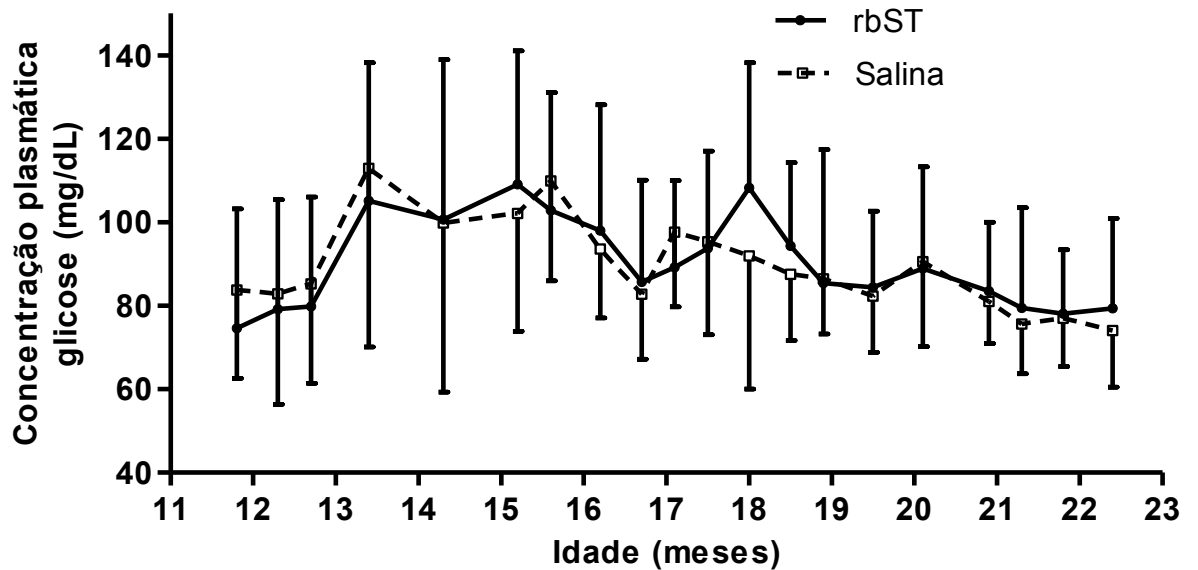


FIGURA 12- Concentração plasmática de glicose (mg/dL) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15; Média \pm DP).

Apesar da ausência de diferença na concentração de glicose, a concentração plasmática de insulina foi maior nos animais do grupo rbST aos 20,1 \pm 1 meses de idade (6,77 \pm 0,73 vs 5,18 \pm 0,74 UI/mL, p=0,06) e houve tendência a ser maior no grupo rbST aos 17,5 \pm 1 meses de idade (9,40 \pm 0,71 vs 7,09 \pm 0,72 UI/mL, p=0,03), nos outros meses do experimento não houve diferença entre os grupos (Figura 13).

Em *Bos taurus* o tratamento com rbST não alterou as concentrações de insulina (tanto aos 5, 7 e 14 dias após tratamento, COOKE et al., 2012), porém há relatos de que o tratamento com rbST aumentou as concentrações de insulina, independente das concentrações de glicose, indicando independência da hiperglicemia (HALL et al., 1994).

Não foi possível observar correlação entre as concentrações plasmáticas de glicose e insulina (p=0,55), o que reforça esta hipótese. O aumento na concentração plasmática de insulina não interferiu na concentração plasmática

de glicose, pode ser que o rbST diminua a resposta à insulina, mantendo a glicemia mesmo com concentração elevada de insulina, evidenciando um possível efeito “diabetogênico” do tratamento prolongado com rbST (KOPCHICK; CIOFFI, 1991).

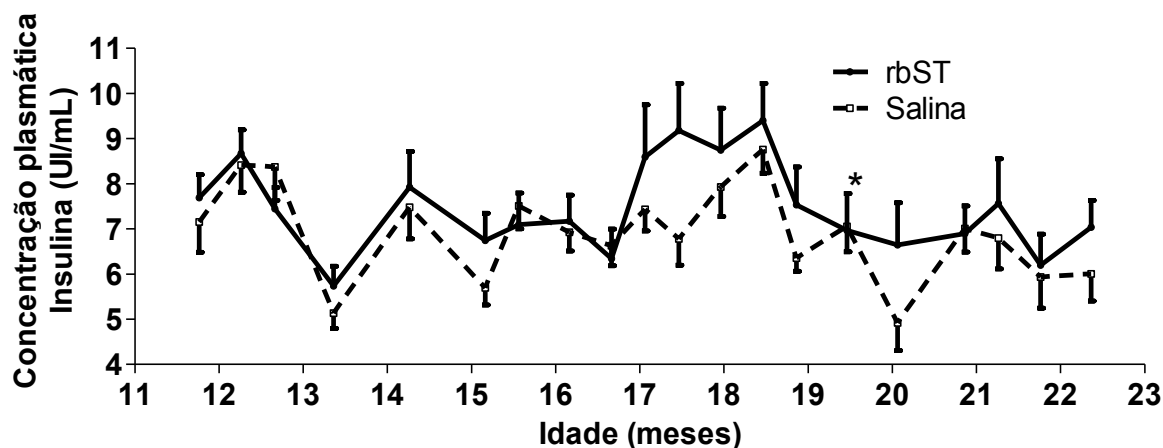


FIGURA 13- Concentração plasmática de insulina (UI/mL) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15).

*Valores com diferença estatística ($p < 0,05$; Média \pm DP).

6.6 Hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I)

A concentração plasmática do GH não foi diferente entre os grupos em nenhum momento do experimento ($p > 0,05$), nem a média de todo o período do experimento ($22,24 \pm 20,43$ vs $24,15 \pm 20,18$ ng/mL; $p = 0,15$; Figura 14).

O maior aumento na concentração de GH ocorre 3 dias após aplicação de rbST, mantendo concentrações elevadas até 10 dias após aplicação (BURATINI et al., 2000), como as amostras foram coletadas 14 dias após a aplicação do rbST, a concentração de GH provavelmente pode ter retornado a níveis basais.

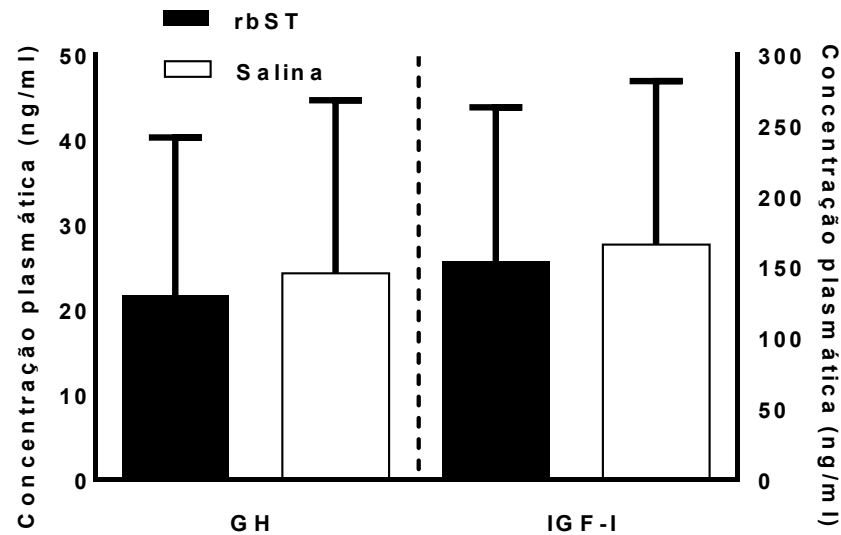


FIGURA 14- Concentrações plasmáticas médias de GH e IGF-I (ng/mL) durante 10 meses em amostras colhidas 14 dias após o tratamento com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15) em novilhas Nelore entre 12 e 22 meses de idade. (Média \pm DP).

Observou-se uma correlação positiva entre a concentração plasmática de insulina e a concentração plasmática de GH ($r=0,09$; $p=0,05$), durante todo o experimento. Sabe-se que a concentração plasmática de GH está aumentada em novilhas que consomem uma dieta com moderada-baixa energia (ganho 0,7kg/d) quando comparadas com novilhas com elevado consumo de energia (ganho 1,2kg/d; BUSKIRK et al., 1996; CHELIKANI et al., 2009). Por outro lado o elevado consumo de energia aumenta a expressão de RNAm para o receptor de GH (GHR 1A) no fígado. Maiores quantidades de GHR 1A, melhoram a capacidade do fígado de responder ao GH, e aumentar a síntese e secreção de IGF-I, amplificando os efeitos do tratamento com rbST (RADCLIFF et al., 2004). A expressão de GHR 1A no fígado é dependente de insulina, pois a infusão contínua de insulina aumentou a quantidade de mRNA para GHR 1A e IGF-I no fígado de vacas leiteiras no pós parto (BUTLER et al., 2003), o que explica que dietas com elevado aporte energético favoreçam o sistema somatotrófico.

Durante todo o experimento, não foi possível identificar diferença nas concentrações plasmáticas de IGF-I entre as novilhas tratadas com rbST e as novilhas do grupo salina ($154,10 \pm 108,40$ vs $165,80 \pm 115,40$ ng/mL; $p=0,15$; Figura 13). Há relatos de aumentos de até o dobro da concentração plasmática de IGF-I em novilhas tratadas com rbST de liberação lenta, entre 5 e 7 dias após a aplicação de rbST (BURATINI et al., 2000; COOKE et al., 2013) ou aumentos constantes de IGF-I com aplicação diária de rbST (RADCLIFF et al., 2004). As concentrações plasmáticas de IGF-I estão associadas positivamente com a ingesta de nutrientes e com o ganho de peso (YELICH et al., 1996), sendo assim um indicador do estatus nutricional do animal.

Neste modelo experimental utilizou-se rbST de liberação lenta e a coleta de amostras foi realizada 14 dias após aplicação. Novilhas Angus tratadas com 250mg rbST apresentaram concentrações plasmáticas de IGF-I 15% maiores do que novilhas controle, 14 dias após a aplicação (BUSKIRK et al., 1996). As doses de rbST foram iguais em ambos os estudos, mas a quantidade de rbST/kg foram menores nas Nelore (0.96mg/kg) que nas novilhas Angus (1.67/kg). Acreditamos que isto possa explicar a ausência de efeito do rbST sobre as concentrações plasmáticas de IGF-I no nosso experimento.

No grupo rbST as concentrações de IGF-I foram positivamente correlacionadas com o diâmetro do maior folículo ($r= 0,13$; $p=0,05$). O IGF-I modula a atividade ovariana estimulando os receptores para LH e FSH nos folículos (BARCELLOS et al., 2014). Animais com um plano nutricional pobre (100% manutenção) têm menores concentrações plasmáticas de IGF-I, diminuindo a disponibilidade de IGF-I para os folículos, fazendo possivelmente que estes folículos não tenham quantidades adequadas de receptores de LH devido a menor disponibilidade de IGF-I circulantes (ROBERTS et al., 2005).

6.7 Leptina

A leptina é uma citocina circulante secretada pelos adipócitos (ZHANG et al., 1994), pelo que a EGS pode ser usado como preditor das suas concentrações plasmáticas (CHELIKANI et al., 2009).

A concentração plasmática de leptina foi maior nos animais do grupo salina aos 12,7±1 (p=0,02), 13,4±1 (p= 0,01), 14,3±1 (p=0,04) e 16,2±1 (p=0,03) meses de idade (Figura 15) e apresentou tendência a ser maior aos 12,3±1 (p=0,10), 15,2±1 (p=0,06) e 16,7±1 (p=0,09) meses de idade. Durante o período restante as concentrações plasmáticas de leptina nos animais salina foram numericamente maiores que as dos animais do grupo rbST em 18 das 19 dosagens, pode ser que com um numero maior de animais a diferença seja significativa.

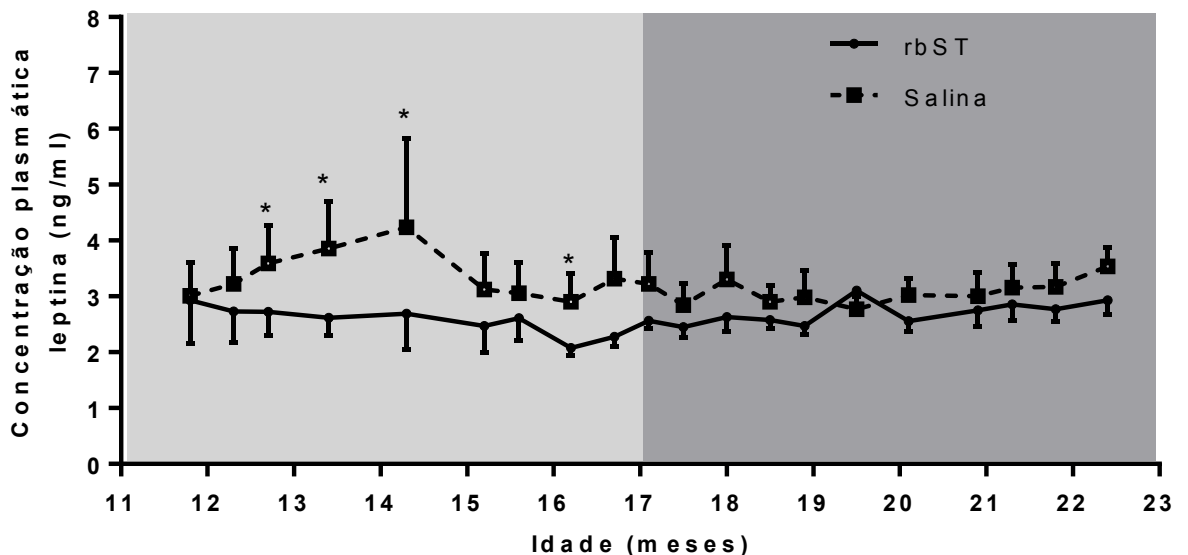


FIGURA 15- Concentração plasmática de leptina (ng/mL) em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15). A região mais clara corresponde à época de chuvas, e conseqüentemente mais oferta de forragem; a região mais escura corresponde à época de seca, e conseqüentemente menor oferta de forragem.

*Valores com diferença estatística (p<0.05; Média ± DP).

A administração de rbST altera o metabolismo intermediário, inibe a lipogênese, ao mesmo tempo que estimula a atividade lipolítica no tecido

adiposo de bovinos (HALL et al., 1994), favorece a deposição de tecido muscular (HALL et al., 1994; VESTERGAARD et al., 1993) e implica em menor concentração de leptina.

Quando analisados todos os animais, a concentração plasmática de IGF-I foi correlacionada positivamente com as concentrações de leptina ($r=0,17$, $p<0,01$) e insulina ($r=0,21$, $p<0,01$), mas negativamente com as de glicose ($r=-0,12$, $p<0,01$). Esta correlação negativa encontrada entre as concentrações de IGF-I e glicose foi muito baixa, o que pode ser atribuído ao momento da coleta da amostra ou efeito matemático da análise, já que quando analisado o grupo rbST separadamente, a concentração de IGF-I apresentou correlação positiva com a concentração de glicose ($r=0,15$, $p=0,01$). Novilhas com dieta de elevada energia apresentam aumento das concentrações plasmáticas de leptina, insulina, IGF-I e glicose, além da diminuição das concentrações plasmáticas de GH e NEFA refletindo à elevada densidade de nutrientes da dieta (CHELIKANI et al., 2009).

Foi possível observar que a diferença na concentração de leptina ficou mais evidente durante os meses de chuva, onde a disponibilidade de alimento é maior e os animais poderiam depositar maior quantidade de gordura subcutânea, no entanto, devido ao efeito lipolítico do rbST e a possível potencialização do seu efeito pela elevada oferta de energia, os animais do grupo tratado não apresentaram esse aumento na concentração plasmática de leptina (Figura 15).

6.8 Desempenho na primeira estação de monta

O tratamento prolongado com 250mg rbST a cada 14 dias entre 12 e 22 meses de idade em novilhas Nelore não afetou a taxa de prenhez durante a primeira estação de monta em resposta a IATF ou IATF+ repasse de touro.

Os grupos rbST e salina tiveram respectivamente taxas de prenhez de 43,8% (7/16) e 46,7% (7/15) para a primeira IATF; 44,4% (4/9) e 37,5% (3/8) para a segunda IATF; 40,0% (2/5) e 60% (3/5) para o repasse com touro e, 81,25% (13/16) e 86,66% (13/15; $p=1,00$) para a estação de monta completa.

O número de serviços não diferiu entre os tratamentos ($p=1,00$; Tabela 1). Alguns autores reportam que o tratamento com rbST em novilhas pré púberes tende a diminuir a taxa de prenhez da primeira estação de monta (BUSKIRK et al., 1996). O detrimento do desempenho na primeira estação de monta de novilhas tratadas prolongadamente com rbST pode ser explicado pelo efeito “diabetogenico” do rbST, que é associado frequentemente com hiperglicemia e hiperinsulinemia (KOPCHICK; CIOFFI, 1991). Os resultados indicam uma possível resistência à insulina, mas isto não afetou a taxa de prenhez a IATF, provavelmente porque a estação de monta das novilhas se iniciou três meses depois da última aplicação de rbST, permitindo que as concentrações de glicose e insulina voltassem a se normalizar.

Tabela 1- Taxa de prenhez após duas IATF e repasse com touro durante 60 dias em novilhas Nelore tratadas a cada 14 dias (entre 12 e 22 meses de idade) com rbST (250mg; n=16) ou solução salina (2,5mL; n=15) durante uma estação de monta de 4 meses.

Grupo	Taxa de Prenhez				<i>p</i>
	1ª IATF	2ª IATF	Touro	Total EM	
rbST	44% (7/16)	25% (4/9)	13% (2/5)	81% (13/16)	1.0000
Salina	47% (7/15)	20% (3/8)	20% (3/5)	86% (13/15)	

7 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos e considerando as condições experimentais conclui-se que novilhas da raça Nelore tratadas com 250mg de rbST a cada 14 dias de 12 a 22 meses de idade apresentaram,:

- Após 14 dias da administração, concentrações plasmáticas de GH, IGF-I e glicose inalteradas, mas maior concentração plasmática de insulina aos 20,1 meses de idade;
- menor deposição de gordura subcutânea a partir dos 18 meses de idade e conseqüentemente menor concentração plasmática de leptina;
- maior diâmetro do maior folículo aos 12,3 meses de idade;
- semelhante idade e peso à puberdade;
- Semelhante taxa de prenhez após protocolo de IATF e repasse com touro, na primeira estação de monta.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de novilhas pré-púberes da raça Nelore com rbST diminuiu a deposição de gordura subcutânea e a concentração plasmática de leptina (mais evidente na maior oferta de forragem), provavelmente aumentando a proporção da massa magra em relação à massa gorda da carcaça; o tratamento aumentou a concentração plasmática de insulina sem alterar a concentração plasmática de glicose, sugerindo uma possível resistência a insulina.

A aplicação de 250mg de rbST não alterou as concentrações de glicose, GH e/ou IGF-I 14 dias após a sua aplicação, no entanto, é possível que altere as concentrações destes hormônios em momentos diferentes.

A concentração plasmática de IGF-I demonstrou ter um efeito positivo sobre o diâmetro do maior folículo. Evidenciou-se que a diminuição da gordura não atrapalhou a idade ou peso da primeira ovulação, nem o desempenho durante a primeira estação de monta de novilhas Nelore, efeito provavelmente compensado pelo possível aumento nas concentrações de IGF-I.

São necessárias mais pesquisas sobre o efeito do IGF-I e a densidade energética na dieta sobre a idade e o peso à puberdade em novilhas Nelore.

9 REFERÊNCIAS

- ADAMS, G.P.; EVANS, A.C.O.; RAWLINGS, N.C. Follicular waves and circulating gonadotropins in 8-month-old prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.100, p.27-33, 1994.
- AKERS, R.M.; ELLIS, S.E.; BERRY S.D. Ovarian and IGF-I axis control of mammary development in prepubertal heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v.29, p.259–267, 2005.
- ALVES, P. **Taxa de desfrute**. 2012. Disponível em: <https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/23681/taxa-de-desfrute.htm>. acesso em: 04 fevereiro 2014.
- ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA - ANUALPEC, **Anuário da Pecuária Brasileira online**, 2013. Disponível em: <http://www.anualpec.com.br/>. Acesso em 12 junho de 2014.
- ARCHBOLD, H.; BUCKLEY, F.; PIERCE, K. M.; BEGLEY, N.; MEE J.F. Ultrasonography and progesterone concentration at a single time point for the detection of puberty in dairy heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.407–411, 2012.
- ARMSTRONG, J.D.; STANKO, R.L.; COHICK, W.S.; SIMPSON, R.B.; HARVEY, R.W.; HUFF, B.G.; CLEMMONS, D.R.; WHITACRE, M.D.; CAMPBELL, R.M.; HEIMER, E.P. Endocrine events prior to puberty in heifers: role of somatotropin, insulin-like growth factor- I and insulin-like growth factor binding proteins. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.43, p.179–193, 1992.
- AYRES, H.; MACHADO R.F.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; DEMÉTRIO, C.G.B.; LIMA, C.G.; BARUSELLI, P.S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v. 123, p. 175-179, 2009.

AZEVEDO, D.M.M.R.; MARTINS FILHO, R.; LÔBO, R.N.B.; MALHADO, C.H.M.; LÔBO, R.B.; MOURA, A.A.A.; FILHO, E.C. Desempenho reprodutivo de vacas Nelore no Norte e Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.988-996, 2006.

BAGLEY, C.P. Nutritional management of replacement beef heifers: a review. **Journal of Animal Science**, v. 71, p.3155–3163, 1993.

BARB, C.R.; KRAELING, R.R. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.155–167, 2004.

BARCELLOS, J.O.J.; PEREIRA, G.R.; DIAS, E.A.; McMANUS, C.; CANELLAS, L.; BERNARDI, M.L.; TAROUCO, A.; PRATES, E.R. Higher feeding diets effects on age and liveweight gain at puberty in crossbred Nelore × Hereford heifers. **Tropical Animal Health Production**, v.46, p.953–960, 2014.

BELTRAN, M.P. **Possíveis efeitos da leptina e IGF-I plasmáticos sobre a puberdade e a precocidade sexual de novilhas Nelore (Bos taurus indicus)**. São Paulo 2007. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, doutor em Medicina Veterinária. 2007.

BERETTA, V.; LOBATO, J.F.P.; MIELITZ NETO, C.G.A. Produtividade e eficiência biológica de sistemas de produção de gado de corte de ciclo completo no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2 (supl.), p.991-1001, 2002.

BERG, R.T.; WALTERS, L.E. The meat animal: changes and challenges. **Journal of Animal Science**, v.57, p.133-146, 1983.

BERGFELD, E.G.M.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S.; WEHRMAN, M.E.; PETERS, K.E.; GARCIA-WINDER, M.; KINDER, J.E. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. **Biology of Reproduction**, v. 51, p.1051-1057, 1994.

BREIER, B.H.; GALLAHER, B.W.; GLUCKMAN, P.D. Radioimmunoassay for insulin-like growth factor-I: solutions to some potential problems and pitfalls. **Journal of Endocrinology**, v.128, p.347-357, 1991.

BREIER, B.H. Regulation of protein and energy metabolism by the somatotropic axis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, p.209–218, 1999.

BURATINI JUNIOR, J.; PRICE, C.A.; VISINTIN, J.A.; BÓ, G.A. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (bST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v.54, p.421-431, 2000.

BUSKIRK, D.D.; FAULKNER, D.B.; HURLEY, W.L.; KESLER, D.J.; IRELAND, F.A.; NASH, T.G.; CASTREE, J.C.; VICINI, J.L. Growth, reproductive performance, mammary development, and milk production of beef heifers as influenced by prepubertal dietary energy and administration of bovine somatotropin. **Journal of Animal Science**, v.74, p.2649-2662, 1996.

BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S.H.; RADCLIFF, R.P.; LUCY, M.C.; BUTLER, W.R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: Effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v.176, p.205–217, 2003.

CALDWELL, L.C.; CHASE JUNIOR, C.C.; RILEY, D.G.; COLEMAN, S.W.; PHILLIPS, W.A.; SPICER, L.J.; WELSH Jr, T.H.; RANDEL, R.D. The influence of tropical adaptation on plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in purebred and crossbred beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.4017-4022, 2011.

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G.P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.10, p.59-67, 2007.

CARVALHO, M.V.; DINIZ-MAGALHÃES, J.; PEREIRA, A.S.C.; SANTOS, M.V.; SILVA, L.F.P. Effect of chronic infusion of leptin and nutrition on sexual maturation of zebu heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 1207-1215, 2013.

CASTIGLIEGO, L.; ARMANI, A.; GRIFONI, G.; ROSATI, R.; MAZZI, M.; GIANFALDONI, D.; GUIDI, A. Effects of growth hormone treatment on the expression of somatotropic axis genes in the skeletal muscle of lactating Holstein cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v.39 p.40–53, 2010.

COLEGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL-CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Em: Ministerio de Agricultura e Abastecimento/CBRA (convenio Nº 021/1997), Colegio Brasileiro de Reprodução Animal, 2ª ed. Belo Horizonte, p.1-52, 1998.

CHELIKANI, P.K.; AMBROSE, D.J.; KEISLER, D.H.; KENNELLY, J.J. Effects of dietary energy and protein density on plasma concentrations of leptin and metabolic hormones in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1430-1441, 2009.

COOKE, R.F.; CAPPELLOZZA, B.I.; REIS, M.M.; BOHNERT, D.W.; VASCONCELOS, J.L.M. Plasma progesterone concentration in beef heifers receiving exogenous glucose, insulin, or bovine somatotropina. **Journal of Animal Science**, v.90, p.3266-3273, 2012.

COOKE, R.F.; BOHNERT, D.W.; FRANCISCO, C.L.; MARQUES, R.S.; MUELLER, C.J.; KEISLER, D.H. Effects of bovine somatotropin administration on growth, physiological, and reproductive responses of replacement beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.91, p.2894-2901, 2013.

DAFTARY, S.S.; GORE, A.C. IGF-1 in the brain as a regulator of reproductive neuroendocrine function. **Experimental Biology and Medicine**, v.230, p.292-306, 2005.

DAVIS RINCKER, L.E.; VANDEHAAR, M.J.; WOLF, C.A.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; WEBER NIELSEN, M.S. Effect of intensified feeding of heifer calves on growth, pubertal age, calving age, milk yield, and economics. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.3554–3567, 2011.

DAY, M.L.; ANDERSON, L.H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, (supl. 3), p.1-15, 1998.

DIAS, L.T.; EL FARO, L.; ALBUQUERQUE, L.G. Estimativas de herdabilidade para idade ao primeiro parto de novilhas da raça nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.97-102, 2004.

DOHOO, I.R.; LESLIE, K.; DESCÔTEAUX, L.; FREDEEN, A.; DOWLING, P.; PRESTON, A.; SHEWFELT, W. A meta-analysis review of the effects of

recombinant bovine somatotropin 1. Methodology and effects on production. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v.67, p.241-251, 2003.

ELER, J.P.; SILVA JR, J.A.; FERAZ, J.B.S.; DIAS, F.; OLIVEIRA, H.N.; EVANS, J.L.; GOLDEN, B.L. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nellore heifers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.951–954, 2002.

EMERICK, L.L.; DIAS, J.C.; GONÇALVES, P.E.M.; MARTINS, J.A.M.; SOUZA, F.A.; VALE FILHO, V. R.; ANDRADE, V.J. Retorno da atividade ovariana luteal cíclica de vacas de corte no pós-parto: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.4, p.203-212, 2009.

ENRIGHT, W.J.; QUIRKE, J.F.; GLUCKMAN, P.D.; BREIER, B.H.; KENNEDY, L.G.; HART, I.C.; ROCHE, J.F.; COERT, A.; ALLEN, P. Effects of long-term administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. **Journal of Animal Science**, v.68, p.2345, 1990.

ETHERTON, T.D.; BAUMAN, D.E. Biology of somatotropina in growth and lactation of domestic animals. **Physiological Reviews**, v.78, p.745–761, 1998.

EVANS, A.C.O.; ADAMS, G.P.; RAWLINGS, N.C. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to first ovulation in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.100, p.187-194, 1994a.

EVANS, A.C.O.; ADAMS, G.P.; RAWLINGS, N.C. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.102, p.463-470, 1994b.

FORTES, M.R.S.; LI, Y.; COLLIS, E.; ZHANG, Y.; HAWKEN, R.J. The IGF1 pathway genes and their association with age of puberty in cattle. **Animal Genetics**, v. 44, p. 91-95, 2012.

FOSTER, D.L. Puberty in the female sheep. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D.; EWING, L.L.; GREENWALD, G.S.; MARKERT, C.L.; PFAFF, D.W. (Ed.). **The Physiology of Reproduction**, p.1739-1762, 1988.

FOSTER, D.L.; NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. **Biology of Reproduction**, v.60, p. 205–215, 1999.

- FUNSTON, R.N.; MARTIN, J.L.; LARSON, D.M.; ROBERTS, A.J. Physiology and endocrinology symposium: Nutritional aspects of developing replacement heifers. **Journal of Animal Science**, v.90 p.1166-1171, 2012.
- GARCIA, J.; ALCALDE, C.R.; ZAMBOM, M.A.; MARTINS, E.N.; JOBIM, C.C.; ANDRADE, S.R.D.F.; PEREIRA, M.F. Desempenho de Novilhos em Crescimento em Pastagem de Brachiaria decumbens Suplementados com Diferentes Fontes Energéticas no Período da Seca e Transição Seca-Águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, (Supl. 2), p.2140-2150, 2004.
- GASSER, C.L.; BRIDGES, G.A.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E.; KINDER, J.E.; DAY, M.L. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, v.84, p.2050–2056, 2006a.
- GASSER, C.L.; BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; BEHLKE, E.J.; GRUM, D.E.; KINDER, J.E.; DAY, M.L. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. **Journal of Animal Science**, v.84, p.2042–2049, 2006b.
- GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 1989.
- GLENCROSS, R.G. A note on the concentrations of plasma oestradiol-17 β and progesterone around the time of puberty in heifers. **Animal Production**, v.39, p.137-140, 1984.
- GOMES I.; ARYAL, D.K.; WARDMAN J.H.; GUPTA A.; GAGNIDZE K.; RODRIGUEZ R.M.; KUMAR, S.; WETSEL, W.C.; PINTAR, J.E.; FRICKER, L.D.; DEVI, L.A. GPR171 is a hypothalamic G protein-coupled receptor for BigLEN, a neuropeptide involved in feeding. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**; 2013.
- GOTTSCHALL, C.S.; CANELLAS, L.C.; MARQUES, P.R.; CRUZ, J.K.; MARTINS, P.; ALMEIDA, M.R.; BITTENCOURT, H.R. **Taxa de permanência no rebanho e produção de terneiros em vacas de corte acasaladas aos 14 e 24 meses de idade.** 2008. Disponível em:

<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0645-2.pdf>.

acesso em: 01 abril 2013.

GOULART, R. Composição corporal de bovinos e eficiência de produção animal. **AG – A Revista do Criador**, v.10, ed.161, 2012.

HALL, J.B.; SCHILLO, K.K.; FITZGERALD B.P.; BRADLEY, N.W. Effects of recombinant bovine somatotropin and dietary energy intake on growth, secretion of luteinizing hormone, follicular development, and onset of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.72, p.709-718, 1994.

HAWKINS, D.E.; NISWENDER, K.D.; OSS, G.M.; MOELLER, C.L.; ODDE, K.G.; SAWYER, H.R.; NISWENDER, G.D. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. **Journal of Animal Science**, v.73, p. 541-545, 1995.

HINEY J.K.; SRIVASTAVA V.K.; PINE M.D.; LES DEES, W. Insulin-like growth factor-I activates KiSS-1 gene expression in the brain of the prepubertal female rat. **Endocrinology**, v.150, p.376–84, 2009.

HOPPER, H.W.; WILLIAMS, S.E.; BYERLEY, D.J.; ROLLOSSON, M.M.; AHMED, P.O.; KISER, T.E. Effect of prepubertal body weight gain and breed on carcass composition at puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1104–1111, 1993.

JOHNSTON, D.J.; HERD, R.M.; KADEL, M.J.; GRASER, H.U.; ARTHUR, P.F.; ARCHER, J.A. Evidence of IGF-I as a genetic predictor of feed efficiency traits in beef cattle. 7th World Congr. **Genetics Applied to Livestock**, Communication, p.10–16, 2002.

JOHNSTON, D.J.; BARWICK, S.A.; CORBET, N.J.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R.G.; WILLIAMS, P.J.; BURROW, H.M. Genetics of heifer puberty in two tropical beef genotypes in northern Australia and associations with heifer- and steer-production traits. **Animal Production Science**, v.9, p.399–412, 2009.

JONES, E.J.; ARMSTRONG, J.D.; HARVEY, R.W. Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais and Simmental heifers. **Journal of Animal Science**, v.69, p.1607–15, 1991.

KHATIB, N.; GAIDHANE, S.; GAIDHANE, A.M.; KHATIB, M.; HADA, P.S.; GODE, D.; ZAHIRUDDIN, Q.S. Ghrelin: Ghrelin as a regulatory peptide in growth hormone secretion. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. v.8, n.8, p.13-17, 2014.

KOPCHICK, J.J.; CIOFFI, J.A. Exogenous and endogenous effects of growth hormone in animals. *Livestock Production Science*, v.27, p.61-75, 1991.

LARSON, R.L. Heifer Development: Reproduction and Nutrition. **Vetetary Clinics Food Animals practice**, v.23 p.53–68, 2007.

LEAFLET, A.S. **Relationship between body composition and reproduction in heifers**. Ames: Iowa states University, p.145-148, 2001. Disponível em: <http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/beefreports/asl1769.pdf>. Acesso em: 12 maio 2014.

LOBATO, J.F.P. A “vaca ideal” e o seu manejo em sistemas de produção de ciclo curto. In: SIMPÓSIO DA CARNE BOVINA: DA PRODUÇÃO AO MERCADO CONSUMIDOR, 2003, São Borja. **Anais...** Porto Alegre, 2003, p.9-43.

LUCY, M.C. Growth hormone regulation of follicular growth. **Reproduction Fertility and Development**, v.24, p.19–28, 2011.

MACHADO, P.F.A.; BERGMANN, J.A.G.; PEREIRA, J.C.C.; SILVA, M.A. Predição da taxa de gestação de novilhas da raça Nelore acasaladas com um ano de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v.53, n.2, p.1-10, 2001.

MACKEY, D.R.; WYLIE, A.R.; SREENAN, J.M.; ROCHE, J.F.; DISKIN, M.G. The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, and steroid concentration in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.8, p.429-442, 2000.

MACNEIL, M.D.; CUNDUFF, L.V.; DINKEL, C.A.; KOCH. Genetics correlations among sex-limited traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.58, p.1171-1180, 1984.

MAGGIONI, D.; ROTTA, P.P.; MARQUES, J.A.; ZAWADZKI, F.; PRADO, R.M.; PRADO, I.N. Influência da proteína sobre a reprodução animal: uma revisão. **Campo Digital**, v.1, n.2, p.105-110, 2008.

MAQUIVAR, M.G. **Nutritional regulation of precocious puberty in heifers**. Ohio, 2011. Dissertation (Doctorate). Ohio State University, Graduate Program in Animal Sciences, 2011.

MARY, S.; FEHRENTZ, J.A.; DAMIAN, M.; GAIBELET, G.; ORCEL, H.; VERDIE, P.; MOUILLAC, B.; MARTINEZ, J.; MARIE, J.; BANERES, J.L. Heterodimerization with Its Splice Variant Blocks the Ghrelin Receptor 1a in a Non-signaling Conformation: a study with a purified heterodimer assembles into lipid discs. **The Journal of biological chemistry**, v.288, n.34, p.24656-24665 2013.

McGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; MILLER, M.A.; HARTNELL, G.F. Response of somatomedins (IGF-I and IGF-II) in lactating cows to variations in dietary energy and protein and treatment with recombinant n-methionyl bovine somatotropin. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 128–136, 1992.

MIGUEL, M.C.V. **Maturação sexual em bezerras nelore com suplementação alimentar**. Araçatuba 2013. Tese (Doutorado). Universidade Estadual paulista Julho de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, doutor em Ciência Animal. 2013

MONTEIRO, F.M.; MERCADANTE, M.E.Z.; BARROS, C.M.; SATRAPA, R.A.; SILVA, J.A.V.; OLIVEIRA, L.Z.; SARAIVA, N.Z.; OLIVEIRA, C.S.; GARCIA, J.M. Reproductive tract development and puberty in two lines of Nelore heifers selected for postweaning weight. **Theriogenology**, v.80, p.10–17, 2013.

MULLER, E.E.; LOCATELLI, V.; COCCHI, D. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. **Physiological Reviews**, v.79, n.2, p.511–607, 1999.

MURPHY, M.G.; RATH, M.; O'CALLAGHAN, D.; AUSTIN, F.H.; ROCHE, J.F. Effect of Bovine Somatotropin on Production and Reproduction in Prepubertal Friesian Heifers. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2165-2171, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996, 242p.

- NEPOMUCENO, D.D. **Efeito do manejo nutricional sobre a maturação do eixo reprodutivo somatotrófico no início da puberdade de novilhas Nelore**. Piracicaba 2013. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, doutor em Ciência Animal e Pastagens. 2013.
- NOGUEIRA, G.P. Puberty in South American *Bos indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.361-372, 2004.
- NOGUEIRA, G. P.; de LUCIA, R.F.S.; PEREIRA, F.V.; CIRILO, P.D.R. Precocious fertility in Nelore heifers. **Biology of Reproduction**, v. 68, S1, p. 382, 2003.
- OSPINA-PATIÑO, H.; MEDEIROS, F.S. **Suplementação a pasto: uma alternativa na produção de novilho precoce**. In Beefpoint., 2003. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/especiais/suplementacao-a-pasto-uma-alternativa-na-producao-de-novilho-precoce-6430/>. Acesso em 30 dezembro 2014.
- OWENS, F.N.; DUBESKI, P.; HANSON, C.F. Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3138-3150, 1993.
- PARLOW, A.F. **Bovine growth hormone radiomunoassay (bGH RIA)**. National Hormone & Peptide Program. Carston ST: Torrance, 2007.
- PRESTON, R.L.; BARTLE, S.J.; KASSER, T.R.; DAY, J.W.; VEENHUIZEN, J.J.; BAILE, C.A. Comparative effectiveness of somatotropin and anabolic steroids in feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1038-1047, 1995.
- RADCLIFF, R.P.; VANDEHAAR, M.J.; KOBAYASHI, Y.; SHARMA, B.K.; TUCKER, H.A.; LUCY, M.C. Effect of dietary energy and somatotropin on components of the somatotropic axis in holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1229-1235, 2004.
- RADCLIFF, R.P.; VANDEHAAR, M.J.; SKIDMORE, A.L.; CHAPIN, L.T.; RADKE, B.R.; LLOYD, J.W.; STANISIEWSKI, E.P.; TUCKER, H.A. Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1996–2003, 1997.

- RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C. O.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P. M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 259-270, 2003.
- REIS, R.A.; de MELO, G.M.P.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; OLIVEIRA, A.P. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; OLIVEIRA, A.P.; DE MELO, G.M.P.; BERNARDES, T.F. (Eds). *Volumosos na Produção de Ruminantes*. Jaboticabal, v. 2, 2005. **Anais...** Jaboticabal: Funep, p. 25-60. 2005.
- RESTLE, J.; POLLI, V.A.; SENNA, D.B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.4, p.701-707, 1999.
- RICE, L.F. Nutrition and development of replacement heifers. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.7, n.1, p.27-39, 1991.
- ROBERTS, A.G.; KLINDT, J.; JENKINS, T.G. Effects of varying energy intake and sire breed on duration of postpartum anestrus, insulin like growth factor-1, and growth hormone in mature crossed cows. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1705–1714, 2005.
- ROBINSON, T. J. Reproduction in cattle. In: H.H. Cole and P.T. Cupps (Editors), **Reproduction in domestic animals**. 3rd ed. New York. Academic Press, 1977. p.433-441, 1977.
- ROCHA, M.G.; LOBATO, J.F.P. Sistemas de alimentação pós desmama de bezerras de corte para acasalamento com 14/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1814-1822, 2002.
- ROSA, A.A.G. **Pastagens naturais e naturais melhoradas no desenvolvimento e desempenho reprodutivo de novilhas Hereford**. Porto Alegre 2010. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, mestre em zootecnia, 2013.
- SARTORI, R.; BARROS, C. M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.244-250, 2011.

SAS Institute Inc. The SAS System, release 9.3. SAS Institute Inc., Cary:NC, 2014.

SCHAFHÄUSER JUNIOR, J. Desenvolvimento da glândula mamaria durante a recria e sua influencia do potencial produtivo de fêmeas leiteiras. **Revista da FZVA**, v. 13, n. 1, p. 128-148, 2006.

SCHILLO, K.K.; HALL, J.B.; HILEMAN, S.M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3994-4005, 1992.

SCHRODER, U.J.; STAUFENBIEL, R. Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1–14, 2006.

SHARMA, B.K.; VANDEHAAR, M.J.; AMES, N.K. Expression of insulin-like growth factor-I in cows at different stages of lactation and in late lactation cows treated with somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2232–2241, 1994.

SILVA, S.L.; LEME, P.R.; PUTRINO, S.M.; MARTELLO, L.S.; LIMA, C.G.; LANNA, D.P.D. Estimativa do peso e do rendimento de carcaça de tourinhos Brangus e Nelore, por medidas de ultra-sonografia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1227-1235, 2003.

SILVEIRA, A.C.; ARRIGONI, M.B.; OLIVEIRA, H.N.; COSTA, C.; CHARDULO, L.A.; GUILHERME, L.; SILVEIRA, G.; MARTINS, C.L. **produção do novilho superprecoce**. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2., Disponível em: http://www.simcorte.com/index/Palestras/s_simcorte/04_silveira.PDF. acesso em: 24 novembro 2014.

SINCLAIR, K.D.; KURAN, M.; GEBBIE, F.E.; WEBB, R.; Mc EVOY, T.G. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2670-2680, 2000.

SOSA, C.; CARRIQUIRY, M.; CHALAR, C.; CRESPI, D.; SANGUINETTI, C.; CAVESTANY, D.; MEIKLE, A. Endometrial expression of leptin receptor and

members of the growth hormone—Insulin-like growth factor system throughout the estrous cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.208–214, 2010.

SOUZA, J.C.; RAMOS, A.A.; Da SILVA, L.O.C.; EUCLIDES FILHO, K.; ALENCAR, A.A.; WECHSLER, F.S.; FERRAZ FILHO, P.B. Fatores do ambiente sobre o peso ao desmame de bezerros da raça Nelore em regiões tropicais brasileiras. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.30, n.5, p.881-885, 2000.

SPICER, L.J.; ALVARES, P.; PRADO, R.M.; MORGAN, G.L.; HAMILTON, T.D. Effects of intraovarian infusion of insulin-like growth factor-I on ovarian follicular function in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.18, p.265–278, 2000.

SPICER, L.J. Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. **Domestic Animal Endocrinology**, v.21, p.251-270, 2001.

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

STOUFFER, J.R.; CROSS, H.R. Evaluation of beef cattle with real-time array ultrasound. **Journal of Animal Science**, v.61, p.144, 1985.

VARGAS, C.A.; ELZO, M.A.; CHASE JR, C.C.; CHENOWETH, P.J.; OLSON, T.A. Estimation of genetic parameters for scrotal circumference, age at puberty in heifers and hip height in Brahman cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2536–2541, 1998.

VESTERGAARD, M.; SEJRSEN, K.; FOLDAGER, J.; KLASTRUP, S.; BAUMAN, D.E. The effect of bovine growth hormone on growth, carcass composition and meat quality of dairy heifers. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A**, v.43, p.165–172, 1993.

WERTZ-LUTZ, A.E.; JENNINGS, J.S.; CLAPPER, J.A. Plasma ghrelin concentrations of beef cattle consuming a similar amount of dietary energy supplied by different ingredients. **Journal of Animal Science**, v.88, p.2289-2299, 2010.

WERTZ-LUTZ, A.E.; DANIEL, J.A.; CLAPPER, J.A.; SMART, A.J.; TRENKLE, A.; BEITZ, D.C. Prolonged feed intake restriction in beef cattle results in

persistently elevated plasma ghrelin concentrations. **Journal of Animal Science**, v.86, p.564–575, 2008.

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

WILTBANK, M; LOPEZ, H; SARTORI, R; SANGSRITAVONG, S; GUMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, p.17–29, 2006.

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

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

YILMAZ, A.; DAVIS, M.E.; SIMMEN, R.C.M. Analysis of female reproductive traits in Angus beef cattle divergently selected for blood serum insulin-like growth factor I concentration. **Theriogenology**, v.65, p.1180–1190, 2006.

ZERVOUDAKIS, J.T.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P.; CECO, P.R. Desempenho de Novilhas Mestiças e Parâmetros Ruminais em Novilhos, Suplementados durante o Período das Águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.1050-1058, 2002.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v.372 p.425-432, 1994.