UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

PUBERDADE EM NOVILHAS NELORE PROVENIENTES DE DUAS LINHAS DE SELEÇÃO PARA PESO

Fabio Morato Monteiro
Médico Veterinário

Jaboticabal – São Paulo – Brasil
2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

PUBERDADE EM NOVILHAS NELORE PROVENIENTES DE DUAS LINHAS DE SELEÇÃO PARA PESO

Fabio Morato Monteiro

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Mansano Garcia

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Reprodução Animal).

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2011

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FABIO MORATO MONTEIRO – nascido em São Paulo – SP, aos 20 dias do mês de outubro de 1972; concluiu o ensino médio no Colégio Integrado Esquema Universitário, na cidade de São Paulo, em dezembro de 1992; ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária na Universidade Estadual de Londrina – UEL, em fevereiro de 1995; concluiu o curso superior em Medicina Veterinária em dezembro de 1999. Ingressou, em fevereiro de 2001, no curso de pós-graduação, em nível de Mestrado, no Programa de Ciências Biológicas, Área de Concentração em Farmacologia, junto ao Instituto de Biociências, UNESP de Botucatu, sob orientação do Prof. Dr. Ciro Moraes Barros, com bolsa de Mestrado da CAPES e concluiu, em agosto de 2003, com a defesa da Dissertação "PICO PRÉ-OVULATÓRIO DE LH EM VACAS DA RAÇA NELORE (BOS TAURUS INDICUS) APÓS ESTRO INDUZIDO OU SUPERESTIMULAÇÃO OVARIANA COM FSH.". Em março de 2007 iniciou o curso de pós-graduação, em nível de Doutorado, no Programa de Medicina Veterinária, Área de Concentração em Reprodução Animal, na FCAV – UNESP de Jaboticabal, com auxílio à pesquisa da FAPESP. Atualmente é Pesquisador Científico, nível II, do Instituto de Zootecnia (IZ) de Sertãozinho. No Instituto de Zootecnia de Sertãozinho desenvolve pesquisas na área de Sanidade e Reprodução Animal em bovinos de corte desde março de 2005.

EPÍGRAFE

Travessia....
"Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas...
Que já têm a forma do nosso corpo...
E esquecer os nossos caminhos que nos levam sempre aos mesmos lugares...
É o tempo da travessia...
E se não ousarmos fazê-la...
Teremos ficado...
para sempre ...
À margem de nós mesmos..."

Fernando Pessoa

“Aprendi que a coragem não é a ausência do medo, mas o triunfo sobre ele. O homem corajoso não é aquele que não sente medo, mas o que domina esse medo.

Nelson Mandela

DEDICATÓRIA

Dedico a meus pais,
Luiz e **Alzira**,
pelo carinho, suporte, dedicação e motivação,
vocês são meus exemplos...meu porto-seguro....
Valeu à pena.....

Dedico à minha irmã,
Claudia,
e minhas sobrinhas **Luiza** e **Julia**....
vocês são muito importantes na minha vida.....

Dedico a minha companheira
Camila Furlan Mistretta,
por todo amor, carinho, paciência e compreensão...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus.....que me acompanha em todos os passos, todos os lugares, me ensinando o verdadeiro sentido da vida!

Ao professor orientador **Joaquim Mansano Garcia**, grande mestre e cientista, pelo idealismo, confiança, oportunidade e ensinamentos transmitidos durante todos esses anos. Sou muito grato ao senhor por ter acreditado em mim e sempre guardarei um enorme carinho e respeito pelo senhor! Muito obrigado por tudo!

À Pesquisadora. **Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante**, grande amiga e companheira de trabalho no IZ, que muito colaborou com sugestões e participação na banca de qualificação e elaboração da tese.

Aos professores do Departamento de Reprodução Animal da Unesp – Jaboticabal, **Prof. Dr. Cesar Roberto Esper, Profa. Dra. Vera Fernanda Hossepian de Lima, Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente, Prof. Dr. Paulo Henrique Franceschini, Prof. Dr. Gilson Hélio Toniollo, Prof. Dr. Francisco Guilherme Leite,** pela amizade, interesse e conhecimentos transmitidos durante todos esses anos.

Ao meu orientador de mestrado **Prof. Dr. Ciro Moraes Barros**, grande exemplo de cientista, que me ensinou os primeiros passos no meio científico e pelo qual guardo um grande carinho e respeito.

Aos amigos e pesquisadores do IZ, **Ana Regina Pimentel, Joslaine Cyrillo, Renata Helena Branco, Sarah Bonilha, Leopoldo Figueiredo e Alexander Razzok.**

Ao amigo **Prof. Dr. Josineudson Augusto II Vasconcelos e Silva**, pelo inicio do desenvolvimento do projeto e grande força no começo da carreira de pesquisador no IZ.

Aos funcionários do DRA, Edson de Aguiar, Ivo Luiz de Almeida Jr, Isabel Aparecida Penariol Natarelli e Roberta Vantini pelo auxílio, boa convivência e amizade.

Aos campeiros e amigos do IZ, Antonio Bello Sobrinho, Fabio H. da Silva, Clesio Marino, Francisco Figueiredo, Valdemar Silva e Valdir, que foram peças fundamentais na execução do trabalho.

Aos demais amigos e funcionários do IZ, Geraldo de Lima, João P. Mendes, Saulo Aberto, Valter, Orides S. M. Alves, Vanda, Rosangela, Irmã, Catarina, Tereza, José Furtado, Toninho, Nivaldo Nascimento, Saulo Aberto, Estela, Flavio, Eduardo.

A todos estagiários que passaram pelo DRA e pelo IZ, pelo interesse e grande auxílio.

À FAPESP, fundamental para a realização de todos os trabalhos desenvolvidos desde o Mestrado.

Aos amigos do Departamento, Aline Costa de Lucio, Ana Paula Perini, Clara Slade Oliveira, Danilas Salinet de Melo, Marcos Brandão Dias Ferreira, Maria Emília Franco Oliveira, Michely Fernandes de Macedo, Marcelo Barbosa Bezerra, Marina Ragagnin de Lima e Naiara Zoccal Saraiva.

À amiga **Letícia Zoccolaro de Oliveira** pela amizade, carinho, momentos de muitas risadas, incentivos e também parceria na elaboração de muitos trabalhos em conjunto.

À amiga **Tatiane Almeida Drummond Tetzner**, que me acompanhou em grande parte de minha jornada pela Unesp de Jaboticabal..... sempre muito prestativa, extremamente educada e amável! Obrigado por todo o apoio!

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal – UNESP, em especial, ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal e à Pós-graduação, pelas instalações, condições de trabalho, acolhimento e oportunidade.

À minha linda família; tios, tias, primos, primas e avós por todo o amor, incentivo, compreensão, dedicação e entusiasmo transmitidos.

A minha namorada **Camila**, que soube como ninguém o verdadeiro significado da palavra “paciência” ..... obrigado por tudo meu amor!

A todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização desse projeto, tanto com incentivo e auxílio, quanto com apoio e amizade.

APOIO FINANCEIRO

Esse projeto foi financiado pela **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, sob processo nº 07/50275-5, no período entre agosto de 2007 e fevereiro de 2010.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS..... x

LISTA DE FIGURAS..... xii

LISTA DE ABREVIATURAS..... xiii

RESUMO..... xiv

1. INTRODUÇÃO 01

2. REVISÃO DE LITERATURA..... 04

2.1. Projeto de melhoramento genético das raças Zebuínas e Caracu..... 04
2.2. Mecanismos endócrinos da puberdade em fêmeas bovinas..... 06
2.3. Influência da raça na puberdade..... 08
2.4. Idade e peso a puberdade..... 08
2.5. Indicadores de fertilidade..... 09
2.6. Fatores não genéticos..... 13
2.7. Hormônios..... 13
2.8. Ultrassonografia..... 14

3. OBJETIVOS..... 16

4. MATERIAL E MÉTODOS..... 17
4.1. Local e condições do experimento..... 17
4.2. Animais..... 19
4.3. Peso e escore de condição corporal (ECC)..... 20
4.4. Altura da garupa (ALTG)..... 20
4.5. Quantificação de progesterona por radioimunoensaio..... 21
4.5.1. Colheita das amostras..... 21
4.6. Avaliação ultrassonográfica..... 21
4.6.1. Espessura do endométrio e avaliação do tônus uterino..... 22
4.6.2. Área dos ovários..... 23

4.6.3. Corpo lúteo..... 23
4.6.4. População folicular..... 24
4.6.5. Puberdade..... 24
4.7. Análise Estatística..... 24

5. RESULTADOS..... 26
5.1. Peso, escore de condição corporal (ECC) e altura da garaupa (ALTG)..... 26
5.2. Avaliação ultrassonografica..... 30
5.3. Quantificação hormonal..... 39
5.3.1. Quantificação de Progesterona para a avaliação da ciclicidade..... 39
6. DISCUSSÃO..... 41
6.1. Padronização das imagens obtidas para avaliação dos ovários e corno uterino..... 41
6.2. Medidas reprodutivas e manifestação da puberdade..... 42
6.3. Medidas de desenvolvimento e manifestação da puberdade..... 49
7. CONCLUSÕES..... 53
8. IMPLICAÇÕES..... 54
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 55

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Médias ajustadas do peso ao nascer (PN), peso desmame (P210) e peso ao sobre ano (P550) das progênies dos anos de 2005 a 2008 dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS)..... 19

Tabela 2. Médias ajustadas (± erro padrão) para todas as avaliações (1-18) da idade, peso, peso ao nascer (PN), peso desmame (P210), ALTG (altura da garupa), ECC (escore de condição corporal) em novilhas dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007..... 20

Tabela 3. Médias ajustadas (± erro padrão) da idade, peso, altura, ECC (escore de condição corporal), média do tamanho dos ovários (XOV), diâmetro do maior folículo (FOLMAIOR), espessura do endométrio (ESP_ED), quantidade de folículos menores que 4mm (folículos pequenos), entre 4 e 8mm (folículos médios) e maiores que 8mm (folículos grandes), escore do tônus uterino (1 a 3), porcentagem de animais púberes e tamanho do corpo lúteo em novilhas dos rebanhos NeC e NeS nascidas em 2006 e 2007..... 27

Tabela 4. Médias ajustadas (± erro padrão) da idade, altura (ALTG), ECC (escore de condição corporal), peso ao nascer (PN), peso desmame (P210) e peso a puberdade em novilhas não púberes e púberes, dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007..... 30

Tabela 5. Médias gerais ajustadas (± erro padrão) da área do ovário direito (OD), diâmetro do maior folículo no ovário direto (FDOD), corpo lúteo no ovário direito (CLOD), área do ovário esquerdo (OE), diâmetro do maior folículo no ovário esquerdo (FDOE), corpo lúteo no ovário esquerdo (CLOE), média da área dos ovários (XOV) e espessura do endométrio uterino (ESP_ED), quantidade de folículos pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm) em novilhas do rebanho Nelore Controle (NeC) nascidas em 2006 e 2007..... 32

Tabela 6. Médias gerais ajustadas (± erro padrão) da área do ovário direito (OD), diâmetro do maior folículo no ovário direto (FDOD), corpo lúteo no ovário direito (CLOD), área do ovário esquerdo (OE), diâmetro do maior folículo no ovário esquerdo (FDOE), corpo lúteo no ovário esquerdo (CLOE), média da área dos ovários (XOV) e espessura do endométrio uterino (ESP_ED), quantidade de folículos pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm) em novilhas do rebanho Nelore Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007..... 33

Tabela 7. Comparação da quantidade de folículos e tônus uterino em novilhas não púberes e púberes do rebanho Nelore Controle nascidas em 2007..... 39

Tabela 8. Comparação da quantidade de folículos e tônus uterino em novilhas não púberes e púberes do rebanho Nelore Controle nascidas em 2007..... 39

Tabela 9. Médias ajustadas (± erro padrão) da dosagem sérica de progesterona (ng/ml) em novilhas púberes e não púberes dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007..... 40

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Exemplo de imagens que foi realizado a leitura da espessura do endométrio uterino em novilhas Nelore pré-puberes..... 23

Figura 2. Exemplo de imagens que foi realizado a leitura da área dos ovários (cm^2) em novilhas Nelore pré-puberes..... 23

Figura 3. Médias ajustadas para peso e ECC dos rebanhos NeC e NeS (*p<0,05)..... 28

Figura 4. Médias ajustadas da ALTG (Altura da garupa) nos rebanhos NeC e NeS (*p<0,05)..... 28

Figura 5. Médias ajustadas para peso (kg) das novilhas Nelore não púberes e púberes (*p<0.05)..... 30

Figura 6. Médias ajustadas em porcentagem acumulado dos animais que atingiram a puberdade nos rebanhos NeC e NeS (*p<0.05)..... 31

Figura 7. Comparação das médias ajustadas do aumento da área dos ovários (cm2) nos rebanhos NeC e NeS (Esquerda) e nas novilhas não púberes e púberes (Direita) (*p<0.05) de 12 a 24 meses..... 34

Figura 8. Comparação das médias ajustadas do aumento da espessura do endométrio uterino nos rebanhos NeC e NeS (Esquerda) e nas novilhas não púberes e púberes (Direita) (*p<0.05) de 12 a 24 meses..... 35

Figura 9. Comparação das médias ajustadas do diâmetro do maior folículo (FOLMAIOR) nos rebanhos NeC e NeS (Esquerda) e nas novilhas não púberes e púberes (Direita) (*p<0.05) dos 12 aos 24 meses..... 36

Figura 10. Médias ajustadas para a quantidade de folículos pequenos (A), médios (B) e grandes (C) e escore do tônus uterino (D) nos rebanhos NeC (▲) e NeS (□) (*p<0.05)..... 38

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ALTG	Altura da garupa
CL	Corpo lúteo
CLOD	Corpo lúteo ovário direito
CLOE	Corpo lúteo ovário esquerdo
EEZS	Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho
ECC	Escore de condição corporal
ETR	Escore do trato reprodutivo
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
h^2	Herdabilidade
kg	Kilograma
LH	Hormônio luteinizante
MHz	Mega hertz
ml	Mililitros
mm	Milímetro
ng	Nanograma
NeC	Nelore Controle
NeS	Nelore Seleção
NeT	Nelore Tradicional
OD	Ovário direito
OE	Ovário esquerdo
P_4	Progesterona
P378	Peso padronizado aos 378 dias para macho
P550	Peso padronizado aos 550 dias para fêmas
P210	Peso ao desmame
PGP	Prova de ganho de peso
PN	Peso ao nascer
US	Ultrassom ou ultrassonografia

PUBERDADE EM NOVILHAS NELORE PROVENIENTES DE DUAS LINHAS DE SELEÇÃO PARA PESO

RESUMO - O presente trabalho teve como objetivo avaliar por ultrassonografia os ovários e suas estruturas e os cornos uterinos, além de quantificar os níveis séricos de progesterona para estudar suas relações com o desenvolvimento e idade à puberdade em novilhas Nelore provenientes de duas linhas de seleção para peso. Em 1980, o rebanho Nelore foi divido em duas linhas de seleção para peso ao sobreano, rebanhos Nelore Controle (NeC) e Nelore Seleção (NeS). No rebanho NeS são selecionados animais com maiores diferenciais de seleção para peso, enquanto no rebanho NeC são selecionados animais com diferenciais próximos de zero. As primeiras novilhas a entrarem na puberdade foram as do rebanho NeS aos 18,4 meses, mas ao final das avaliações (aos 24,4 meses de idade), não foi houve diferença significativa entre os rebanhos (NeC=52% e NeS=48%) na manifestação da puberdade. As novilhas que apresentaram puberdade ao final do trabalho foram aquelas de maior peso ao desmame e à puberdade e com idades menores em relação às não púberes. Não foram encontradas diferenças entre os rebanhos nas medidas reprodutivas estudadas por ultrassonografia, porém quando avaliadas por puberdade, as novilhas púberes comparadas às não púberes apresentaram maior área dos ovários, espessura do endométrio e tônus uterino. Há evidências que apenas o peso a desmama e o peso à puberdade tiveram efeito positivo ($P<0,001$) na manifestação da puberdade, e a seleção para peso não alterou as características reprodutivas avaliadas em novilhas criadas em um sistema de manejo a pasto. Dentre as medidas reprodutivas avaliadas, a área dos ovários, espessura do endométrio e tônus do útero foram as que apresentaram efeito positivo ($P<0,001$) na manifestação da puberdade num sistema de manejo a pasto.

Palavras-Chave: espessura do endométrio, Nelore, novilhas, peso, puberdade

PUBERTY IN NELLORE HEIFERS FROM TWO SELECTION LINES FOR WEIGHT

ABSTRACT - This study aimed to evaluate ovaries, its structures and uterine horns by ultrasound, and to measure serum progesterone levels, correlating them with body development and age at puberty in two Nellore lines of selection for yearling weight. In 1980, the Nellore herd was divided in two selection lines for yearling weight, herds Control Nellore (NeC) and Selection Nellore (NeS). In NeS herd animals are selected based on the greatest selection differential for yearling weight, while in NeC herd animals are selected based on selection differential around zero. Heifers from NeS herd initiated puberty earlier, (18.4 months of age), however, at the end of the study (at 24.4 months of age), no significant difference was observed between herds (NeC=52% and NeS=48%) in puberty manifestation. Heifers which entered puberty at the end of the study were heavier at weaning and at puberty and presented younger ages than non-puberty heifers. No significant differences were detected on reproductive measures evaluated by ultrasound between herds, but when measured by puberty, pubertal heifers compared to non-pubertal heifers had greater ovaries area, height of uterine horn and uterine tone. There are evidences that weaning weight and weight at puberty had a significant effect ($P<0.001$) on puberty manifestation and selection for post weaning weight did not change reproductive traits studied in heifers reared in grazing management system. Among reproductive characteristics evaluated, ovaries area, height of uterine horn and uterine tone were the ones that presented significant effect ($P<0.001$) on puberty manifestation in grazing management system.

Keywords: endometrial thickness, Nellore, heifers, weight, puberty

1. INTRODUÇÃO

A produtividade dos rebanhos bovinos de corte no Brasil é reconhecidamente baixa e parte desse atraso pode ser atribuída à idade tardia do primeiro serviço das novilhas, que é ao redor de 24-36 meses de idade. Em rebanhos de origem européia e que são criados em países temperados, a parição de novilhas aos dois anos de idade é realidade há muitos anos, situação em que a produção de bezerros durante a vida útil da matriz pode ser significativamente maior do que em fêmeas parindo aos três anos de idade (MORRIS, 1980). Na pecuária brasileira ocorre um grande desperdício quanto à utilização precoce das fêmeas na reprodução, uma vez que as novilhas são recriadas durante a estação seca em sistema de sobrevivência. Com isto, um alto percentual delas vai para o abate sem nenhuma chance de identificar as de maior precocidade sexual (LANNA, 2004)

A idade à puberdade tem grande impacto sobre a eficiência produtiva, reprodutiva e econômica em fêmeas bovinas. Com isso uma idade mais avançada ao primeiro parto irá representar perdas econômicas nas atividades da pecuária de leite e de corte. O momento e início deste evento fisiológico implica que a taxa de crescimento e o desenvolvimento do animal seja adequado, de forma a dar suporte aos mecanismos endocrinológicos que resultam na puberdade e maturidade sexual. A idade à puberdade e a primeira concepção irão influenciar a produtividade de toda a vida dos animais, refletida na quantidade de progênies (BAGLEY, 1993). A ocorrência da puberdade na fêmea é o final de uma série de eventos, que resultam em uma ovulação acompanhada por estro e função lútea normal (MORAN et al., 1989). Apesar da importância dessa característica, os sinais metabólicos que ativam os mecanismos endócrinos que desencadeiam a puberdade são ainda desconhecidos. Em bovinos, como em outras espécies, a maturação do eixo reprodutivo ocorre de forma gradativa e está associada a alterações na composição corporal e no eixo somatotrófico, que regula o “status” metabólico do animal. Ainda que as alterações nos mecanismos reprodutivos que conduzam à puberdade tenham sido bem estabelecidas, os sinais metabólicos

que modulam os processos de maturação sexual não são bem estabelecidos.

Diferentemente de outros caracteres de reprodução de fêmeas, medidos mais tarde na vida do animal e que apresentam herdabilidade (h^2) baixa (MERCADANTE et al., 2003), a capacidade da novilha zebuína ficar gestante precocemente tem um componente genético aditivo de média a alta magnitude, variando nos estudos com animais da raça Nelore de 0,37 a 0,57 (DIAS et al., 2002; ELER et al., 2002; ELER et al., 2004; SILVA et al., 2005), resultados extremamente favoráveis para a implementação de índices de seleção que contemplem esta característica na seleção de touros e novilhas. Segundo ELER (2004), existe um mito de que as raças zebuínas apresentam puberdade tardia, entretanto, na raça Nelore existem animais tardios e precoces, sendo necessário e importante identificar e selecionar esses últimos.

Hoje, nos centros de avaliação genética de reprodutores, nas associações de criadores, nas propriedades pecuárias voltadas ao melhoramento genético e até nas exposições de bovinos, a preocupação sobre identificar e selecionar novilhas zebuínas mais férteis está presente. Entretanto, parece claro que são necessários mais estudos sobre a viabilidade da disseminação desta tecnologia para que não haja em poucos anos uma decepção por parte dos criadores e técnicos de campo pelos resultados às vezes lentos e não tão favoráveis de gestação.

A recomendação de identificar e acasalar novilhas precocemente deve estar associada a recursos tecnológicos para a obtenção de resultados satisfatórios. Dentre estes se destacam o peso dos animais, condições de criação no período pré e pós-desmame, condições de criação na pré-concepção, manejo alimentar, e também fatores ligados ao aparelho reprodutivo das fêmeas, como avaliação dos cornos uterinos, medidas do ovário e quantificação da concentração de progesterona.

NOGUEIRA (2004), em revisão de estudos sobre a puberdade em bovinos de corte zebuínos na América do Sul, descreve que a puberdade em zebu é um problema que afeta sua produtividade e que o melhoramento desta característica

é possível, porque a idade à puberdade tem uma herdabilidade alta. Conseqüentemente, novilhas selecionadas pela idade ao primeiro parto podem produzir progênies que exibem puberdade precoce.

Assim como o peso, outras medidas nas novilhas são tomadas como rotina em propriedades antes da entrada na estação de monta, como altura da garupa e escore corporal. Aliados aos parâmetros de desenvolvimento, informações do trato reprodutivo das novilhas e níveis séricos de progesterona também podem auxiliar na estimativa da puberdade sexual da fêmea.

O conhecimento dos parâmetros reprodutivos em Zebuínos e Taurinos devido a uma intensa seleção genética para peso pós–desmama, é uma informação importante para o delineamento de programas de seleção para estas raças, visando a melhoria dos índices reprodutivos e, conseqüentemente, aumento de produção de carne (RAZOOK & MERCADANTE, 2007). Vários trabalhos destacaram os ganhos genéticos alcançados nas características de crescimento nos rebanhos Nelore (RAZOOK et al., 1997; MERCADANTE et al., 2003; MERCADANTE & RAZOOK, 2010). Porém, poucos estudos foram feitos para avaliar o impacto da seleção genética na eficiência reprodutiva nas raças Zebuínas e Taurinas. O conhecimento dos parâmetros reprodutivos em zebuínos e taurinos devido a uma intensa seleção genética para peso pós–desmama, é uma informação importante para o delineamento de programas de seleção para estas raças, visando a melhoria dos índices reprodutivos e, conseqüentemente, aumento de produção de carne (RAZOOK & MERCADANTE, 2007).

Dentro do contexto abordado, o objetivo do presente trabalho foi de avaliar por ultrassonografia os ovários e suas estruturas e os cornos uterinos, além de quantificar os níveis séricos de progesterona, relacionando-os e comparando com o desenvolvimento corporal e idade à puberdade em novilhas Nelore provenientes de duas linhas de seleção para peso.

Nossa hipótese experimental foi de que o rebanho Nelore Seleção teria menor eficiência reprodutiva que o rebanho Nelore Controle nas características estudas em novilhas dos 12 aos 24 meses de idade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Projeto de melhoramento genético das raças zebuínas e Caracu

A Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho (EEZS), atual Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica dos Agronegócios de Bovino de Corte (CAPTA - Bovino de Corte), é um órgão do Instituto de Zootecnia (IZ) da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Governo do Estado de São Paulo, Brasil. Está localizada na região Nordeste do Estado de São Paulo, onde se desenvolve principalmente, o melhoramento genético das raças zebuínas Gir, Guzerá e Nelore, além da raça taurina Caracu, desde 1980

Em 1980, o rebanho Nelore foi dividido em duas linhas de seleção para peso ao sobreano que constituiu o rebanho Nelore Controle (NeC), com 60 matrizes, e o rebanho Nelore Seleção (NeS), com 120 matrizes. As vacas que sobraram deram origem a um terceiro rebanho, Nelore Tradicional, que não será descrito aqui. As primeiras progênies dos rebanhos separados nasceram em 1981, cujos pais já eram selecionados com base em diferencial de seleção (DS) para peso ao sobreano, 3 deles com DS positivo usados no rebanho NeS e 2 no rebanho NeC.

Anualmente, são selecionados 7 a 10% dos machos nascidos e 55 a 65% das fêmeas nascidas, com base no diferencial de seleção em P378 e P550, respectivamente. No rebanho NeS são selecionados machos e fêmeas com maiores diferenciais para as características P378 e P550, em um esquema denominado de seleção direcional. Em geral, mamíferos domésticos, a capacidade fecundante dos machos é maior que as das fêmeas e, por essa razão, a seleção que pode ser aplicada nos machos é muito maior que aquela que pode ser aplicada nas fêmeas em um esquema de reprodução tradicional, em que não são usadas biotécnicas para aumentar a capacidade reprodutiva das fêmeas, como transferência de embriões. No rebanho NeC, são selecionados machos e fêmeas com diferenciais próximos de zero, ou seja, animais que estão na média dos contemporâneos de rebanho, em um esquema denominado seleção

estabilizadora. Isso faz com que o NeC seja um rebanho testemunha para o NeS, pois os animais apresentam hoje a mesma média de desempenho de P378 e P550 que tinham em 1980. (MERCADANTE & RAZOOK 2010). O critério de seleção baseia-se exclusivamente no peso padronizado aos 378 dias (P378) obtido ao final da Prova de Ganho de Peso (PGP) para machos, e peso padronizado aos 550 dias (P550) para as fêmeas.

Os nascimentos ocorrem de setembro a novembro e os animais são criados em pastagens de capim colonião (*Panicum maximum*) e braquiária (*Brachiaria brizantha*) até a desmama, que é realizada quando os animais atingem, em média, 7 meses de idade. Após a desmama, os machos vão para prova de ganho de peso em confinamento por 168 dias, com ganho de até 1 kg/dia, e as fêmeas permanecem em pastagem. São selecionados anualmente 7% dos machos e 60-70% das fêmeas, aos 378 dias e 550 dias, respectivamente. O desenvolvimento e seleção de novilhas para a reposição é provavelmente uma das mais importantes decisões a serem realizadas na pecuária de corte. Na maioria dos rebanhos a percentagem de reposição de novilhas esta em torno de 20%, e a meta dessas fêmeas é produzir a cada 365 dias um bezerro vivo que possua maior peso que um bezerro de um rebanho comum (sem seleção) (MERCADANTE & RAZOOK, 2010).

A fertilidade inerente da novilha de corte reflete em parte sua genética, e um indicador desta fertilidade é a idade à puberdade. Esta pode ser definida por meio de um critério de seleção, que pode ser a novilha exibir sinais físicos e comportamentais do estro, presença de corpo lúteo na palpação entre o sexto e décimo dia pós-estro e concentração de progesterona sérica maior que 1 ng/ml (PERRY et al., 1991; PATTERSON et al., 1992). Vale a pena ressaltar que a eficiência reprodutiva do rebanho, inclusive a idade a puberdade de novilhas, é altamente influenciada pelo manejo e pelo ambiente e dentre esses fatores a nutrição é, certamente, o de maior impacto (SANTOS & AMSTALDEN, 1998).

2.2. Mecanismos endócrinos da puberdade em fêmeas bovinas.

Em mamíferos a puberdade é definida como “a idade em que o animal se torna capaz de reproduzir”, enquanto que maturidade sexual é quando o animal “atinge todo o seu potencial reprodutivo” (LANNA, 2004). Segundo LANNA (2004) esses dois conceitos não podem ser usados indistintamente. Muitas vezes novilhas são incapazes de se reproduzir após primeira ovulação. Portanto, a primeira ovulação não é sinônimo de maturidade sexual. Em novilhas, puberdade é o primeiro ciclo estral, seguido pelo desenvolvimento normal do corpo lúteo e a observação de um segundo estro. Do ponto de vista prático, a ocorrência da puberdade em novilhas é o ápice final de uma série de eventos. Entretanto, os sinais da maturação fisiológica pelo eixo hipotálamo-hipófise são mais efetivos para mensuração dos sinais da puberdade de novilhas que a idade cronológica. A idade cronológica pode não ser a melhor opção de se determinar quando a novilha alcança a puberdade. Atualmente, utilizar a liberação (concentração) hormonal pode refletir quando a genética subjacente da novilha está influenciando o estro (BURNS et al., 1992).

Segundo KINDER et al. (1987), o processo de ocorrência da puberdade é lento e gradual, sendo que o início desses eventos ocorre antes do nascimento e se estende até o período pré-puberdade e peripuberdade nas fêmeas, e também é o resultado de uma série de eventos complexos que regulam o eixo reprodutivo endócrino. Apesar de muitos trabalhos documentando esses eventos, pouco se conhece sobre os mecanismos que controlam o início da manifestação da puberdade (SCHILLO et al., 1992). Segundo DAY & ANDERSON (1998) o aumento na secreção de LH pela hipófise como conseqüência do aumento da liberação de GnRH pelo hipotálamo vai gerar o estimulo necessário para a ocorrência da puberdade. Esse aumento na freqüência de pulsos de LH é denominado período peribuberdade, e dura aproximadamente os 50 dias que precedem à puberdade nas novilhas (DAY et al. 1984, 1987).

RAMIREZ & MCCANN (1963) propuseram a teoria gonadostática sugerindo que o aumento da secreção de LH na fase pré-púbere é o resultado da diminuição

do feedback negativo pelo estradiol no hipotálamo. Conforme se aproxima a puberdade o efeito do feedback negativo pelo estradiol na secreção de LH vai diminuindo, permitindo um aumento na freqüência de pulso de LH (DAY et al., 1984). A diminuição do feedback negativo pelo estradiol conforme se aproxima a puberdade foram demonstradas em borregas (FOSTER, 1994), marrãs (BERARDINELLI et al., 1984), ratas (DOCKE et al., 1984) e macaca Rhesus (RAPISARDA et al., 1983). Os mecanismos responsáveis, na fase pré-púbere, pela diminuição do mecanismo de feedback negativo pelo estradiol na secreção de LH e a sua localização no eixo hipófise-hipotálamo, ainda não está totalmente esclarecido (DAY et al., 1987). DOCKE et al. (1984) sugeriram que a sensibilidade da parte medial do hipotálamo ao mecanismo de feedback exercido pelo estradiol foi controlada por neurônios localizados na área pré-óptica, que é mais sensível ao estradiol. A sensibilização dos neurônios na região pré-óptica do hipotálamo poderia ser inativado pela exposição ao estradiol. Isto resultou na diminuição da capacidade de resposta do hipotálamo medial basal ao feedback negativo exercido pelo estradiol. Em ratas pré-púberes, a região arqueada ventromedial do hipotálamo medial basal tem sido descrita como a primeira área que o estradiol exerce sua influência negativa na secreção de LH (MEZA-HERRERA et al., 2009). Outra possível explicação para o aumento na secreção de LH durante a maturação sexual de fêmeas, seria a mudança no tipo e quantidade de subtipos de receptores de estradiol presentes no hipotálamo. Existem os subtipos ERα e ERβ, e segundo COUSE & KORACH (1999), em camundongos, aparentemente o ERα é mais importante para a estimulação de gonadotrofinas que o ERβ. Segundo esses mesmos autores, animais que não expressam ERα são inférteis. A quantidade e localização dos receptores para estradiol é outro fator importante a ser considerado no aumento na secreção de LH. Dependendo da área do hipotálamo o estradiol age de maneira diferente. Em ovelhas, na região médio-basal do hipotálamo o estradiol estimula a secreção de GnRH e na área pré-óptica medial inibe a liberação de LH (CARATY et al., 1998).

Vários fatores têm sido mostrados influenciando a fertilidade da novilha. Entre os fatores genéticos incluídos estão: raça, idade e peso (ou ganho) a puberdade, indicadores da fertilidade e exposição ao touro (LANNA, 2004; EMERICK et al., 2009).

2.3. Influência da raça na puberdade

Animais da subespécie *Bos taurus indicus* são predominantes em regiões tropicais devido à sua maior tolerância ao estresse térmico e resistência a endo e ecto parasitas quando comparados a rebanhos de origem européias (HANSEN, 2004). Com isso existem diferenças fisiológicas entre os genótipos para essa adaptação, como por exemplo, o inicio da puberdade. Novilhas *Bos taurus* iniciam a puberdade mais precocemente que animais *Bos indicus* (RANDEL, 1984).

GREGORY et al. (1979) relataram estudo demonstrando que novilhas *Bos indicus* apresentaram idade tardia para alcançar a puberdade quando comparadas com novilhas *Bos taurus* e que, em média, os animais de raças Zebuínas necessitaram de ambiente mais favorável para alcançar a puberdade em idades menores. Recentemente, JOHNSTON et al. (2009) através de imagens ultrassonográficas, compararam a idade ao aparecimento do primeiro corpo lúteo em novilhas da raça Brahmam (*Bos indicus*) e Composto Tropical (*Bos indicus x Bos taurus*). Os autores confirmaram que as novilhas de origem zebuína apresentaram CL cerca de 100 dias mais tarde que novilhas de cruzamento *Bos indicus* e *Bos taurus*. Apesar das novilhas oriundas de genótipo *Bos taurus* iniciarem a puberdade mais precocemente que *Bos indicus*, o efeito do feedback negativo exercido pelo estradiol na fase pré-púbere não apresentou diferenças fisiológicas entre os genótipos (RODRIGUES et al., 2002).

2.4. Idade e peso à puberdade

A idade que ocorre à primeira cobertura e concepção são determinantes primários da produtividade das novilhas, e a idade à puberdade é o principal fator que determina a competência da fêmea em sua primeira estação de monta. A

idade que o animal inicia a puberdade é influenciada por diversos fatores, os quais incluem ambiente, peso corporal, fotoperíodo, raças, heteroses, temperatura, nutrição, bem como taxa de crescimento antes e após a desmama. Animais com idades precoces que alcançam a puberdade foram mais prováveis de exibir estro em idades cronológicas jovens (BRINKS et al., 1978). Em revisão da literatura MARTIN et al. (1992) indicaram que o peso foi o fator mais importante para a puberdade, mas que a idade jovem a puberdade foi igualmente importante quando se analisou para o aumento da fertilidade inerente da novilha. Idade e peso da novilha são características herdáveis. MARTIN et al. (1992) revisaram várias estimativas de herdabilidade para idade à puberdade, que estenderam de 0,07 até 0,67 (WERRE & BRINKS, 1986) com estimativa média de 0,40. O peso à puberdade teve estimativa entre 0,40 (LASTER et al., 1979) e 1,09 (ARIJE & WILTBANK, 1971), com estimativa média de 0,64. O ganho de peso corporal após a desmama também tem grande influência sobre a idade à puberdade. Foi demonstrado que animais que tiveram maior ganho de peso no pós-desmame anteciparam a puberdade (HALL et al., 1995; QUINTANS et al., 2004), com isso melhoraram a taxa de concepção e aumentaram a taxa de gestação, além de aumentar a produção de leite (BUSKIRK et al., 1995). Outros trabalhos indicam que a taxa de crescimento no período pré-desmama tem maior influência sobre a puberdade (EMERICK et al., 2009). Animais que atingiram a puberdade mais precocemente e com maior peso obtiveram maior taxa de crescimento no período pré-desmana (WILTBANK, 1970).

2.5. Indicadores de fertilidade

O custo para se obter dados da idade à puberdade é alto. Entretanto, perímetro escrotal e escore do trato reprodutivo são duas metodologias alternativas para determinar precocemente a idade à puberdade. O perímetro escrotal foi bastante estudado e tem sido indicado como uma característica que está associada com a precocidade de novilhas. Entretanto, alguns trabalhos (MARTÍNEZ-VELÁZQUEZ et al., 2003; ELER et al., 2004; SILVA et al., 2006)

mostraram que a correlação genética da medida do perímetro escrotal com precocidade e fertilidade em fêmeas Zebuínas não é alta.

A avaliação do escore do trato reprodutivo (ETR) foi uma técnica desenvolvida por pesquisadores da Universidade do Colorado, EUA (ANDERSON et al., 1991) como método indicador da puberdade da novilha. Tem seu registro com base em escore subjetivo do grau de maturidade do ovário e corno uterino e é utilizado para identificar o estado fisiológico de maturidade da novilha a ser acasalada. Novilhas classificadas com escore um (1) são novilhas com aparelhos reprodutores infantis, indicados por cornos uterinos pequenos e sem tônus e ovários pequenos sem estruturas significativas. Escore dois (2) é considerado um pouco melhor que escore um, devido principalmente a cornos uterinos e ovários um pouco maiores. Novilhas com escore três (3) são consideradas prestes a apresentar ciclo estral normal, com base principalmente no tônus uterino e em folículos palpáveis. Novilhas classificadas com escore quatro (4) e cinco (5) se referem a um útero maturo com tônus forte e apresentando corpo lúteo funcional. A diferença é que no escore cinco detecta-se facilmente o CL à palpação retal. Todavia, esses autores descrevem que o escore do trato reprodutivo deve ser mais eficaz em novilhas mais velhas e que provavelmente seja mais efetivo como método de descarte. A estimativa média da herdabilidade para o escore do trato reprodutivo foi 0,32 $\pm$ 0,17 (ANDERSON et al., 1991). Utilizando o mesmo critério adotado por ANDERSON et al. (1991), mas com modificações nas medidas de avaliações das estruturas do aparelho reprodutivos de novilhas, FERREIRA et al. (1999) relataram em novilhas *Bos indicus* maior taxa de gestação conforme maior ETR. Utilizando o ETR em novilhas como critério de seleção na entrada da estação de monta, HOLM et al. (2009) relataram que novilhas que apresentaram no mínimo ETR três (3) tiveram aumento de 64% na taxa de gestação, mas o principal benefício da seleção por ETR foi a redução do intervalo ao parto, que permitiu as novilhas maior período para se recuperar do estresse do parto e, consequentemente, iniciar a próxima estação de monta em condições mais favoráveis. Esses autores concluíram que o ETR é melhor preditor do

desempenho reprodutivo que outras características comumente usadas como peso corporal e escore de condição corporal (HOLM et al., 2009). Outros autores simplificaram o método de classificação utilizado por ANDERSON et al. (1991), como CLARO JUNIOR et al. (2010) que classificaram de um (1) a três (3) o aparelho reprodutor de novilhas Nelore pré-púberes, indicando escore um (1) com diâmetro do corno uterino <20mm e fraco tônus uterino, escore dois (2) com diâmetro do corno uterino >20mm e fraco tônus uterino e escore (3) com diâmetro do corno uterino >20mm e forte tônus uterino.

O diâmetro folicular pré-ovulatório tem sido colocado como importante indicador de fertilidade em vacas e novilhas (PERRY et al., 2005, 2007). PERRY et al. (2005) relataram diminuição na taxa de gestação em vacas que foram induzidas à ovulação quando o diâmetro folicular foi menor que 11mm, entretanto na ovulação espontânea não observaram diferenças. Entretanto, a mesma equipe de pesquisadores observou melhores taxas de gestação em novilhas com ovulação espontânea, ou induzida com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), quando o diâmetro dos folículos mediam entre 10,7mm e 15,7mm (PERRY et al., 2007). Os melhores índices de gestação foram obtidos quando o diâmetro do folículo ovulatório alcançou 12,8mm (PERRY et al., 2007). A estimativa média para a herdabilidade estimada do diâmetro folicular foi 0,16 ± 0,03 (MACNEIL et al., 2006).

Outro indicador de fertilidade avaliado por ultrassonografia e que está sendo estudado atualmente é a população de folículos antrais (CUSHMAN et al., 1999, 2009). É um método que avalia a reserva e a capacidade ovariana tendo como aplicação bom indicador de fertilidade e longevidade reprodutiva de fêmeas bovinas (ALVAREZ et al., 2000; IRELAND et al., 2008). O ovário de bovinos contém uma grande quantidade de folículos primordiais no nascimento, mas uma pequena quantidade dos folículos presentes nos ovários ovulam durante sua vida reprodutiva (ERICKSON, 1966). ERICKSON (1966) relatou em novilhas que nasceram com menos do que 100.000 folículos primordiais na sua vida reprodutiva apresentaram quantidade menor de folículos antrais, e novilhas que

apresentaram mais que 100.000 folículos ao nascimento tiveram positiva correlação com os números de folículos em crescimento e antrais. CUSHMAN et al. (1999) confirmaram a correlação positiva entre o número de folículos primordiais e antrais em ovários de bovinos, relatando que o número de folículos antrais foi um bom indicador na resposta ovulatória a gonadotrofinas exógenas, sugerindo uma relação entre a reserva ovariana de bovinos ao nascimento e sua a capacidade reprodutiva. O intervalo entre partos também sofreu influência na quantidade de folículos antrais detectáveis por ultrassom. Vacas da raça Brangus com intervalo entre partos menores tiveram maior quantidade de folículos antrais que vacas com intervalo entre partos maiores (OLIVEIRA et al., 2002). Além disso, animais repetidores de cio também tiveram uma quantidade menor de folículos que o controle (MAURER & ECHTERNKAMP, 1985). Existem fatores que podem influenciar a quantidade de folículos primordiais e antrais ao longo da sua vida reprodutiva, como fator nutricional, ambiental e raça. ALVAREZ et al. (2000) relataram em diferentes raças a quantidade de folículos antrais presente nos ovários e detectáveis ao ultrassom. Vacas da raça Brahman tiveram maior quantidade de folículos antrais do que vacas Senepol, e vacas Senepol tiveram maior quantidade que vacas Angus (ALVAREZ et al. 2000). Esses autores sugeriram que a diferença na reserva ovariana de folículos pode ser devido, em parte, por diferenças no genótipo dos animais.

Juntos, esses resultados sugerem que a quantidade de folículos antrais avaliados por ultrassom, pode ser bom indicador de fertilidade e se avaliado juntamente com o escore do trato reprodutivo, antes da primeira estação de monta, poderá identificar as fêmeas com maior potencial de fertilidade. Mais estudos com medidas repetidas durante a vida reprodutiva de fêmea bovina são necessários para confirmar esses resultados e relacionar a quantidade folículos antrais a fertilidade (MARTIN et al., 1992; CUSHMAN et al., 2009).

Outras características utilizadas como indicadoras da fertilidade, encontradas na literatura foram altura da garupa (VARGAS et al., 1999; SILVA et al., 2003) e escore de condição corporal (DEROUEN et al., 1994; HALL et al.,

1995; VARGAS et al., 1999). Entretanto, ainda não existe uma segurança com base nos resultados obtidos e nos diferentes trabalhos quanto à associação entre estas características e a maturidade sexual e gestação de novilhas.

2.6. Fatores não genéticos

Estudos enfocando estratégias de suplementação de bezerras em pastagem no período pós-desmama com o objetivo de obter resultados/soluções quanto à antecipação do cio e/ou gestação para 17-18 e/ou 14-15 meses de idade de novilhas *Bos taurus* e/ou *Bos indicus* e cruzadas já foram realizados (BERETTA et al., 1998; FRIZZO et al., 2000; SEMMELMANN et al., 2001; RODRIGUES et al., 2002). Entretanto, os resultados são contraditórios, apesar das novilhas apresentarem estro e/ou gestação, maior ou menor peso na entrada da estação de monta, nem sempre o efeito da suplementação é estatisticamente significativo sobre o resultado reprodutivo (cio ou gestação).

Em trabalho com novilhas Hereford, MONTANHOLI et al. (2004) avaliaram os efeitos do ganho de peso no período de recria, dos 13 aos 18 meses de idade sobre a taxa de gestação das fêmeas acasaladas no sobreano durante o outono, e observaram que os diferentes tratamentos que as novilhas foram submetidas (ganho médio de 0,595, 0,656 e 0,723 kg/dia) não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

2.7. Hormônios

Quanto às concentrações hormonais, a de menor custo e menos laboriosa é a dosagem da concentração de progesterona, que está associada com a idade à puberdade, como descrito por HONARAMOOZ et al. (1999). Nesta medida, se define que a primeira vez que o nível plasmático de progesterona excede 1,0 ng/ml, ocorre a primeira ovulação, indicativo da puberdade da novilha. Este critério foi bem estabelecido em vacas e novilhas *Bos taurus* cíclicas e que tinham corpo lúteo funcional produzindo concentração plasmática de progesterona acima de 1 ng/ml (MILVAE & HANSEL, 1983; HOFFMANN & SCHÜLLER, 2002). Entretanto,

a glândula adrenal também é capaz de produzir quantidade significativa de progesterona quando estimulada por elevada concentração de ACTH (WILLARD et al., 2005). O comportamento mais irrequieto e agressivo principalmente em manejos mais intensivos, como colheita de sangue, é observado em animais *Bos indicus* (FORDYCE et al., 1988; VOISINET et al., 1997; MONTEIRO et al., 2009) e isso pode ser um fator que contribui para o aumento da concentração de P4 circulante em novilhas *Bos indicus* pré-púberes, porque esse tipo de comportamento vai aumentar a secreção e a concentração de ACTH e cortisol circulante (CURLEY et al., 2008). Resultados semelhantes foram relatados em novilhas cruzadas Brahman (COOKE & ARTHINGTON, 2009) e Nelore pré-púberes (CLARO JUNIOR et al., 2010). Embora, no exame por US o corpo lúteo estava ausente, algumas novilhas apresentaram níveis de progesterona plasmático acima de 1 ng/ml (CLARO JUNIOR et al., 2010). Esses autores concluíram que apenas utilizar a avaliação da concentração plasmática de progesterona para determinar o início da puberdade em novilhas *Bos indicus*, pode resultar numa falsa interpretação de puberdade em novilhas pré-púberes e que a avaliação do “status” de puberdade deve sempre estar associada com a avaliação ovariana através de US.

2.8. Ultrassonografia

Estudos têm utilizado a ultrassonografia para descrever o que ocorre no trato reprodutivo de vacas e novilhas durante o ciclo estral (SIROIS & FORTUNE, 1988; ADAMS, 1999), entretanto, pouco se estudou quanto ao desenvolvimento pré-púbere do trato reprodutivo de fêmeas bovinas, devido principalmente estar limitado e derivado em grande parte por exames de tecido colhidos no abate (DESJARDINS & HAFS, 1969) ou em estudos com ultrassonografia focalizando a dinâmica folicular ovariana (GINTHER et al., 1996; AHMAD et al., 1997; MELVIN et al., 1999; ROMANO et al., 2007).

HONARAMOOZ et al., 2004, realizaram estudo não invasivo com ultrassonografia do sistema reprodutivo inteiro de fêmeas da raça Hereford,

tomando medidas a cada duas semanas no mesmo animal, no período 2 a 60 semanas de idade. Os autores demonstraram a viabilidade do uso da ultrassonografia e apresentaram resultados importantes do padrão do desenvolvimento sexual e sua regulação, apesar de utilizarem apenas seis animais.

Em estudo com novilhas Nelore, DE LUCIA et al. (2002) observaram que 32% das novilhas apresentaram gestante aos 15 meses de idade e foram consideradas como fêmeas que exibiram puberdade precoce. Essas novilhas tinham um maior diâmetro do folículo dominante aos 12 e 14 meses de idade comparadas com as fêmeas não precoces. Esta implicação está de acordo com PERRY et al. (1991) que observaram associação do diâmetro do folículo aos 11 meses de idade com o começo da puberdade em novilhas cruzadas *Bos indicus*.

A importância do conhecimento da puberdade e maturidade sexual está associada com estudos da precocidade, uma vez que conhecendo a idade que ocorre o início da puberdade, por métodos rápidos e precisos, é possível programar o acasalamento das novilhas e colocá-las em estação de monta como forma de obter uma característica a ser utilizada como critério de seleção.

Nesse sentido, justifica-se o desenvolvimento de pesquisas que visem aumentar o conhecimento da puberdade e a maturidade sexual de novilhas zebuínas criadas a pasto e à expectativa de desenvolver uma característica a ser utilizada como critério de seleção de novilhas mais precoces e que alcancem gestações com menores idades.

3. OBJETIVOS

- Descrever as possíveis diferenças entre duas linhas de seleção para peso em novilhas Nelore (Rebanhos: Controle e Seleção) com relação ao desenvolvimento do sistema reprodutivo feminino (útero e ovários) por meio de ultrassonografia transretal e início da puberdade sexual.
- Avaliar a associação entre peso, condição corporal, altura da garupa, concentração sérica de progesterona e medidas do trato reprodutivo (ultrassom) com o início da puberdade em novilhas Nelore.
- Estabelecer técnicas viáveis e de fácil mensuração, com relação à época e quais medidas, para avaliação da puberdade sexual em Novilhas Nelore criadas a pasto.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local e Condições do Experimento

O Projeto foi conduzido na Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho (EEZS), unidade de pesquisa do Instituto de Zootecnia, vinculada à Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, localizada na região Nordeste do Estado de São Paulo (21o10’ latitude norte e 48o5’ longitude oeste). A região apresenta clima tropical úmido, com temperatura e precipitação médias anuais de 24°C e 1312 mm, respectivamente. As pastagens são constituídas de capim colonião (Panicum maximum) e braquiária (Brachiaria brizantha).

Foram utilizados animais provenientes de duas de linhas de seleção para peso ao sobreano. Em 1980, o rebanho Nelore foi dividido em duas linhas constituindo o rebanho Nelore Controle (NeC) e o rebanho Nelore Seleção (NeS). No rebanho NeS são selecionados machos e fêmeas com maiores diferenciais para as características P378 e P550, em um esquema denominado de seleção direcional, e no rebanho NeC, são selecionados machos e fêmeas com diferenciais próximos de zero, ou seja, em um esquema denominado seleção estabilizadora. Isso faz com que o NeC seja um rebanho testemunha para o NeS, pois os animais apresentam hoje a mesma média de desempenho de P378 e P550 que tinham em 1980.

Anualmente utiliza-se de quatro até oito touros nos rebanhos NeC e NeS, sendo 50% deles com dois anos (primeira monta) e 50% com três anos (segunda e última monta), selecionados segundo o diferencial de seleção, dentro de grupo contemporâneo rebanho x ano, para peso padronizado aos 378 dias (P378), obtido após prova de desempenho em confinamento de 168 dias de duração. As fêmeas são selecionadas segundo o diferencial de seleção do peso padronizado aos 550 dias (P550), em regime de pasto, mas em geral são retidas 50% delas para uma taxa anual de descarte de 20% das matrizes. Nos rebanhos selecionados são retidos para reprodução machos e fêmeas de maior diferencial e para o NeC aqueles com diferencial de seleção nulo (7-10% machos e 55 a 65%

fêmeas). Sempre se toma o cuidado de não selecionar, em um mesmo ano, mais que dois filhos de um reprodutor. Todos os detalhes da implantação dos rebanhos e do processo seletivo estão descritos em MERCADANTE & RAZOOK (2010).

Após a seleção aos 18 meses, que ocorre no mês de abril, as novilhas são mantidas em pasto até a entrada na primeira monta natural no mês de novembro, ao redor dos dois anos de idade. Os lotes de monta são formados por meio da inspeção das genealogias, a fim de evitar acasalamentos endogâmicos. As fêmeas são colocadas em monta natural a pasto, em lotes médios de 25 matrizes para NeS e 15 matrizes para NeC, para cada touro (lotes individuais), durante 90 dias, recebendo somente suplementação mineral. Menores relações vaca/touro são utilizadas para os tourinhos de 2 anos de idade (15:1).

As datas de entrada e saída da monta são 15 de novembro e 15 de fevereiro, com pequenas variações no decorrer dos anos. Setenta e sete por cento dos partos ocorrem nos meses de setembro e outubro, 16% em novembro, e 5 e 2% em agosto e dezembro, respectivamente. Os bezerros são desmamados nos meses de abril e maio, com sete meses de idade. As fêmeas são descartadas em decorrência da falha reprodutiva em dois anos consecutivos, por problemas de saúde, má habilidade materna (abandono de bezerro em anos consecutivos), ou senilidade, ao redor de 11 anos.

Na Tabela 1, estão apresentados os dados referentes às avaliações para peso ao nascer (PN), peso ao desmame (P210) e peso ao sobreano (P510), das progênies nascidas entre 2005 e 2008, nos rebanhos NeC e NeS.

Tabela 1. Médias ajustadas do peso ao nascer (PN), peso desmame (P210) e peso ao sobre ano (P550) das progênies dos anos de 2005 a 2008 dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS).

	NeC (n=106)	NeS (n=191)
PN (kg)	25,2[a]	31,5[b]
P210 (kg)	156,8[a]	193,5[b]
P550 (kg)	253,6[a]	314,9[b]

Médias ajustadas seguidas de letras diferentes, nas linhas, diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade.

4.2. Animais

Foi utilizado um total de 125 novilhas Nelore, analisadas em dois períodos. No primeiro período (outubro de 2007 até novembro de 2008) foram analisadas 61 novilhas nascidas em 2006, sendo que 19 pertenciam ao rebanho NeC e 42 ao rebanho NeS. No segundo período (outubro de 2008 até novembro de 2009) foram analisadas 64 novilhas nascidas em 2007, sendo que 28 pertenciam ao rebanho NeC e 36 ao Rebanho NeS. No decorrer do experimento foram descartadas duas novilhas por óbito e uma por apresentar dificuldade de locomoção, impossibilitando sua ida ao local da realização das colheitas de dados (os dados desses animais foram desconsiderados no presente trabalho).

As novilhas foram mantidas em piquetes de pastagens de capim colonião (*Panicum maximum*) e braquiária (*Brachiaria brizantha*), após a desmama até a entrada da estação de monta, período que apresentaram idade ao redor dos 24 meses.

Na Tabela 2, estão apresentadas as média ajustadas (rebanho x ano nascimento) considerando todas as avaliações de desenvolvimento realizadas no período do trabalho (18 avaliações por progênies). Exceção para peso ao nascer e peso ao desmame, obtido em uma única avaliação O objetivo foi evidenciar as diferenças existentes entre os rebanhos Seleção e Controle para as características de crescimento.

Tabela 2. Médias ajustadas (± erro padrão) para todas as avaliações (1-18) da idade, peso, peso ao nascer (PN), peso desmame (P210), ALTG (altura da garupa), ECC (escore de condição corporal) em novilhas dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007.

	NeC (n=46)	NeS (n=77)
Idade (meses)	18,69 ± 0,13[a]	18,59 ± 0,10[a]
Peso (kg)	238,19 ± 1,99[a]	293,27 ± 1,53[b]
Peso ao Nascer (PN)	23,66 ± 0,14[a]	30,47 ± 0,10 [b]
Peso Desmame (P210)	149,92 ± 0,82[a]	180,00 ± 0,62[b]
ALTG (m)	1,25 ± 0,002[a]	1,33 ± 0,001[b]
ECC	5,28 ± 0,03[a]	5,52 ± 0,02[b]

Médias ajustadas seguidas de letras diferentes, nas linhas, diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade.

4.3. Peso e escore de condição corporal (ECC)

Os animais foram pesados e verificados os respectivos ECC a cada 18 -21 dias, entre 12 (início do experimento) e 24 meses (final do experimento) de idade (foram realizadas 18 avaliações nos anos de 2007 e 2008, nas progênies nascidas em 2006, e 18 avaliações nos anos de 2008 e 2009, nas progênies nascidas em 2007).

As avaliações do ECC, por serem subjetivas, foram avaliadas por dois técnicos que realizam essa técnica há mais de doze anos na EEZS, os valores foram utilizados em escala de 1 a 9 para novilhas extremamente magras e gordas, respectivamente (RICHARDS et al.,1986).

4.4. Altura da garupa (ALTG)

Os animais foram avaliados em relação à altura (m) a cada 18 - 21 dias, entre 12 e 24 meses de idade. Esta medida foi tomada por meio de fitas métricas instaladas no interior da balança e representada por uma vertical baixada da porção anterior do sacro ao solo (foram realizadas 18 avaliações nos anos de

2007 e 2008, nas progênies nascidas em 2006, e 18 avaliações nos anos de 2008 e 2009, nas progênies nascidas em 2007).

4.5. Quantificação de progesterona por radioimunoensaio

4.5.1. Colheita das amostras

A colheita de sangue para quantificação de progesterona foi realizada no momento da avaliação por ultrassonografia, através da veia jugular, com tubo de vacuteiner de 10 ml com heparina (BD Vacutainer, Sodium Heparin, Franklin Lakes, NJ, USA).

Amostras plasmática de sangue para quantificação de progesterona sérica foram tomadas por meio de colheita de sangue a cada 18 - 21 dias em cada novilha, com idade entre 12 e 24 meses, para determinar e confirmar a idade à puberdade dos animais, conforme descrito por HONARAMOOZ et al. (1999). Portanto, foram realizadas 18 colheitas de sangue por novilha, sempre antes das avaliações por ultrassonografia. As dosagens foram realizadas no Laboratório de Reprodução Animal da FMVZ/ Unesp – Botucatu, com supervisão da Profa. Dra. Eunice Oba. Foram realizados dois ensaios utilizando o Kit Coat-A-Count Progesterona, DPC, Los Angeles, CA, USA. O coeficiente de variação intra-ensaio para o primeiro e segundo ensaio foi, 4,43% e 2,62%, respectivamente, e o coeficiente inter-ensaio foi de 11,62%.

Cada amostra foi acondicionada em geladeira com temperatura entre 4 e 6°C (por no máximo uma hora e meia) e posteriormente centrifugada por 20 minutos a 3600 rpm. Depois da centrifugação, foi retirado cerca de 3 ml de plasma sanguíneo e dividido em duas alíquotas em eppendorf de 2 ml e acondicionado em freezer -24°C.

4.6. Avaliação ultrassonográfica

Foi avaliada a espessura do endométrio uterino, área dos ovários, diâmetro do maior folículo e do corpo lúteo (quando presente) em cada ovário, a cada 18 21 dias entre 12 e 24 meses de idade, por meio de ultrassonografia (US) transretal

(Pie Medical, Áquila, transdutor 6.0 MHz). Foram realizadas 18 avaliações nos anos de 2007 e 2008, nas progênies nascidas em 2006, e 18 avaliações nos anos de 2008 e 2009, nas progênies nascidas em 2007. O transdutor e o método de análise das imagens utilizados neste trabalho apresentam validação em aplicação com novilhas (ADAMS et al., 1994; EVANS et al., 1994). Em cada observação, as imagens foram arquivadas num cartão de memória acoplado ao aparelho de ultrassom, possibilitando análises retrospectivas. Foi utilizado para a leitura das imagens o programa Echo Image Viewer 1.0 (Pie Medical Equipament B.V. 1996) com precisão de uma casa decimal.

4.6.1. Espessura do endométrio e avaliação do tônus uterino

A medida da espessura do endométrio uterino foi realizada posicionando o transdutor para visualizar imagens longitudinais. O transdutor foi colocado em cima do corno uterino com mínimo de pressão, evitando assim a deformação do corno e alterações nas interpretações das imagens**.** Foram gravadas até 3 imagens da espessura do endométrio uterino. Foi utilizada a imagem que apresentou a melhor qualidade de visualização e posicionamento para mensurar sua espessura em mm (Figura 1).

No segundo período de medidas (2008/2009) também foi avaliado o tônus uterino por palpação retal, sempre antes da avaliação por US e sempre pelo mesmo técnico. O tônus uterino foi dividido em três categorias: T1- sem ou pouco tônus; T2- médio tônus; T3-tônus túrgido.

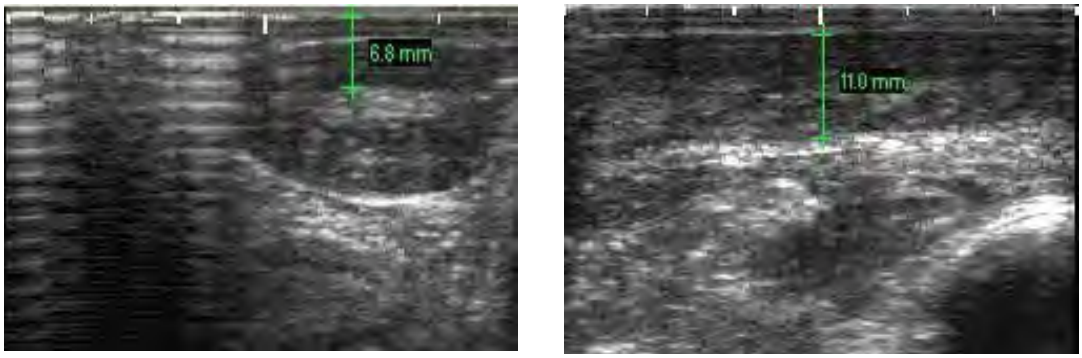


Figura 1. Exemplo de imagens que foi realizado a leitura da espessura do endométrio uterino em novilhas Nelore pré-puberes.

4.6.2. Área dos ovários

Foi realizada a média da área dos dois ovários (direito e esquerdo). Foram gravadas até 3 imagens de cada ovário, totalizando cerca de 6 imagens por animal. Foi utilizada a imagem que apresentou a melhor qualidade de visualização para mensurar sua área em cm^2 (Figura 2).

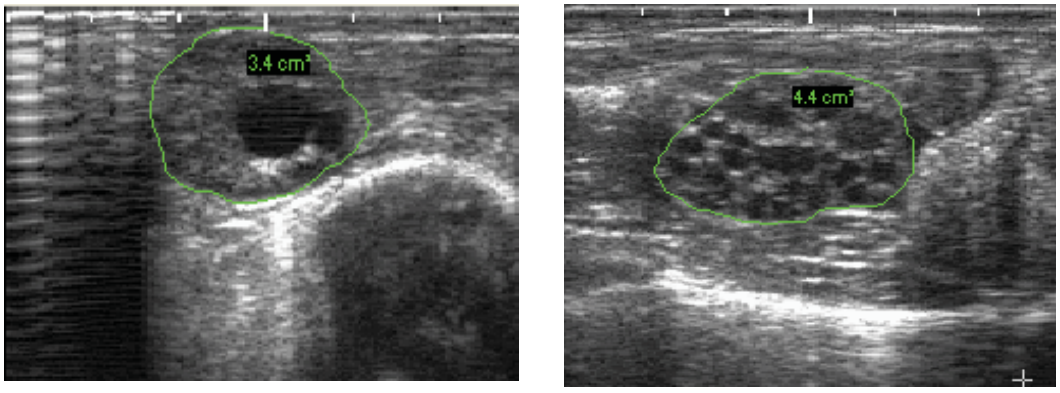


Figura 2. Exemplo de imagens que foi realizado a leitura da área dos ovários (cm^2) em novilhas Nelore pré-puberes.

4.6.3. Corpo Lúteo (CL)

Para verificar o aparecimento do primeiro corpo lúteo, indicativo da primeira ovulação e, conseqüentemente, da puberdade das novilhas, foram monitorados, a

cada 18 - 21 dias, os ovários através de US. O corpo lúteo, quando presente, foi gravado de três a quatro imagens e posteriormente mensurado seu diâmetro.

Avaliações por ultrassonografia dos ovários tem sido tomado quando amostras do sangue são analisadas para monitorar o desenvolvimento do primeiro CL (HONARAMOOZ et al., 2004).

4.6.4. População folicular

Foi analisada a população folicular somente nas novilhas nascidas em 2007, isto é, no segundo período de avaliações (ano 2008/2009). Para facilitar a contagem da quantidade de folículos com o objetivo de avaliar o cenário de como se comporta a população folicular em novilhas Nelore pré-púberes dos 12 aos 24 meses, os folículos foram classificados conforme seu tamanho em três categorias: folículos pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm).

4.6.5. Puberdade

Foram considerados animais púberes aqueles que apresentaram CL visível nas imagens realizadas por US e, concomitantemente, níveis plasmáticos de progesterona acima de 1ng/ml, através de quantificação por radioimunoensaio (CLARO JUNIOR et al., 2010). Novilhas que não apresentaram um desses requisitos foram consideradas não púberes ao término do experimento.

4.7. Análise estatística

Medidas repetidas do peso, ALTG, ECC, espessura do endométrio uterino, área média dos ovários, diâmetro do folículo dominante, população folicular e tônus uterino foram analisadas ajustando um modelo incluindo os efeitos fixos de rebanho (NeC e NeS), ano de nascimento (2006 e 2007), medida (1, ..., 18) e interação rebanho x ano de nascimento e rebanho x medidas, exceto para população folicular e tônus uterino que não incluiu o ano de nascimento e interação, pois foram obtidas somente nas novilhas nascidas em 2007. As análises estatísticas foram feitas no PROC MIXED do SAS (SAS Inst., Inc., Cary,

NC), usando o comando REPEATED para modelar a estrutura de covariância residual dentro de animal, utilizando a estrutura auto-regressiva de primeira ordem, com variâncias homogêneas (Tabela 3, Figuras 1, 2 e 8). Medidas repetidas da presença ou ausência de corpo lúteo (CL) foram analisadas no PROC GEMMOD, com função de ligação probit. O modelo incluiu os efeitos fixos de ano de nascimento, e a interação rebanho x medida, sem modelar o resíduo para as medidas repetidas (Figura 4).

As médias das características estudadas, estimadas por rebanho, e por classe de CL (ausência ou presença de corpo lúteo, 0 ou 1) dentro de rebanho, foram obtidas utilizando o PROC MIXED, sem modelar o resíduo para as medidas repetidas (Tabela 4).

As médias de peso ao nascer, peso ao desmame padronizado para 210 dias de idade e pesos inicial e final do experimento de cada rebanho, por classe de CL, foram estimadas com modelo que incluiu os efeitos fixos de ano e mês de nascimento, classe de idade da mãe e classe de CL.

Para inferir sobre o efeito puberdade nas características peso, espessura do endométrio uterino, área média dos ovários e diâmetro do folículo dominante, as médias por CL foram estimadas em modelo incluindo os efeitos de ano de nascimento, medida, CL e a interação medida x CL, usando o PROC MIXED com o comando REPEATED, como descrito acima, exceto para população folicular e tônus uterino que não incluiu o ano de nascimento (Figuras 3, 5, 6 e 7, Tabelas 7 e 8).

O efeito de rebanho na dosagem sérica de progesterona foi estimado no PROC GLM do SAS, em modelo incluindo os efeitos de rebanho, ano de nascimento, CL e as interações ano de nascimento x CL e rebanho x CL.

Em todas as análises, foram consideradas diferenças significativas quando $p<0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Peso, escore de condição corporal (ECC) e altura da garupa (ALTG)

Os animais mantiveram ganho de peso, condição corporal e crescimento a pasto, exceto no início do experimento e nos meses de julho e agosto, conseqüência da seca, que apesar de em média não perderem peso nem ECC, também não ganharam. A avaliação da evolução do crescimento e medidas reprodutivas das novilhas através de todo o experimento é demonstrada na Tabela 3. Na avaliação do ECC o rebanho NeS apresentou-se em melhores condições na 1º, 2º, 6º, 9º, 10º, 11º, 13º e 14º avaliação ($p<0,05$; Figura 3). Com esses resultados foi observada a diferença entre os rebanhos para crescimento e peso, desde o PN até o peso final do trabalho. (Figuras 3 e 4).

Tabela 3. Médias ajustadas (± erro padrão) da idade, peso, altura, ECC (escore de condição corporal), média do tamanho dos ovários (XOV), diâmetro do maior folículo (FOLMAIOR), espessura do endométrio (ESP_ED), quantidade de folículos menores que 4mm (folículos pequenos), entre 4 e 8mm (folículos médios) e maiores que 8mm (folículos grandes), escore do tônus uterino (1 a 3), porcentagem de animais púberes e tamanho do corpo lúteo em novilhas dos rebanhos NeC e NeS nascidas em 2006 e 2007.

		1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º	12º	13º	14º	15º	16º	17º	18º	Erro padrão
IDADE (MESES)	NeC	12,5	13,4	14,5	15,2	15,9	16,5	17,2	17,8	18,4	19,1	19,8	20,5	21,2	21,8	22,5	23,2	23,9	24,5	± 0,1
	NeS	12,4	13,2	14,3	15,0	15,8	16,3	17,0	17,6	18,3	18,9	19,6	20,3	21,0	21,6	22,3	23,0	23,7	24,3	± 0,08
PESO (Kg)	NeC	155,2	164,3	186,2	194,6	212,4	222,8	235,0	236,4	244,4	254,2	261,4	267,3	268,0	271,4	271,1	286,3	283,3	287,2	± 4,6
	NeS	192,5	202,3	224,0	236,0	254,1	268,9	284,6	288,4	302,9	317,7	322,1	333,9	333,9	340,0	338,5	351,4	347,5	351,6	± 3,6
ALTG (m)	NeC	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	± 0,01
	NeS	1,2	1,2	1,2	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	± 0,01
ECC	NeC	3,9	4,0	4,7	5,1	5,2	5,4	5,5	6,2	5,9	5,7	5,8	5,6	5,1	5,1	5,4	5,7	5,6	5,6	± 0,11
	NeS	4,2	4,3	4,9	5,2	5,3	5,6	5,6	6,1	6,2	6,0	6,1	5,8	5,6	5,7	5,6	5,8	5,7	5,6	± 0,08
XOV (cm^2)	NeC	2,3	2,5	2,6	2,8	2,9	3,1	3,2	3,2	3,3	3,3	3,3	3,4	3,4	3,5	3,5	3,7	3,8	3,9	± 0,09
	NeS	2,3	2,5	2,7	2,9	3,1	3,2	3,3	3,3	3,4	3,4	3,5	3,5	3,5	3,6	3,6	3,7	3,9	4,1	± 0,07
FOLMAIOR (mm)	NeC	8,0	8,3	8,6	8,8	9,2	9,1	9,4	9,0	9,3	8,9	8,8	9,1	9,4	9,2	9,8	10,1	9,9	10,7	± 0,21
	NeS	8,5	8,7	8,9	9,4	9,7	9,9	9,9	9,7	9,8	9,3	9,5	9,6	10,0	10,0	10,1	10,3	11,0	10,5	± 0,15
ESP_ED	NeC	8,4	8,7	8,8	9,1	9,2	9,6	9,8	9,9	10,0	10,2	10,2	10,4	10,6	10,7	11,1	11,3	11,6	11,7	± 0,11
	NeS	8,7	8,9	9,1	9,2	9,3	9,8	9,9	10,0	10,2	10,2	10,5	10,5	10,7	10,9	11,1	11,3	11,5	11,8	± 0,09
FOL PEQUENOS*	NeC	29,0	33,0	35,0	38,9	36,3	36,1	36,9	33,8	38,6	46,8	41,8	46,8	41,8	43,0	44,1	43,4	47,2	45,2	± 2,46
	NeS	25,1	33,6	38,5	38,3	35,7	36,5	34,6	31,8	37,4	48,8	42,3	43,4	39,0	40,7	44,8	43,4	47,4	48,8	± 2,22
FOL MÉDIOS*	NeC	2,9	4,0	5,4	4,9	2,2	2,4	1,9	2,1	2,5	2,5	3,4	3,1	2,9	4,1	2,0	2,4	1,7	2,0	± 0,43
	NeS	4,4	4,3	5,3	5,2	3,6	2,3	2,5	2,8	3,1	3,1	4,5	4,0	3,7	4,7	2,2	3,2	2,1	2,1	± 0,39
FOL GRANDES*	NeC	0,9	1,3	1,6	1,4	1,2	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	0,9	1,0	1,2	0,9	1,4	1,3	1,0	1,2	± 0,14
	NeS	0,7	1,6	1,7	1,4	1,3	1,1	1,2	1,1	1,2	0,8	1,1	1,3	1,4	1,3	1,4	1,4	1,0	1,3	± 0,13
TÔNUS ÚTERO*	NeC	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,2	1,2	1,4	1,4	1,5	1,5	1,6	1,7	± 0,07
	NeS	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	1,1	1,0	1,0	1,2	1,1	1,2	1,3	1,3	1,4	1,5	1,6	1,6	± 0,06
PÚBERES (%)	NeC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	4,5	6,8	9,2	22,7	36,1	51,8	
	NeS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,4	2,4	3,6	3,6	3,6	6,1	10,3	20,1	41,2	45,3	
CL (mm)**	NeC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,9	14,1	16,2	16,8	15,9	15,5	15,0	
	NeS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	14,6	16,7	14,4	15,4	17,3	15,8	15,8	16,0	16,8	16,0	

* Medida realizada nas novilhas nascidas em 2007

** Média observada

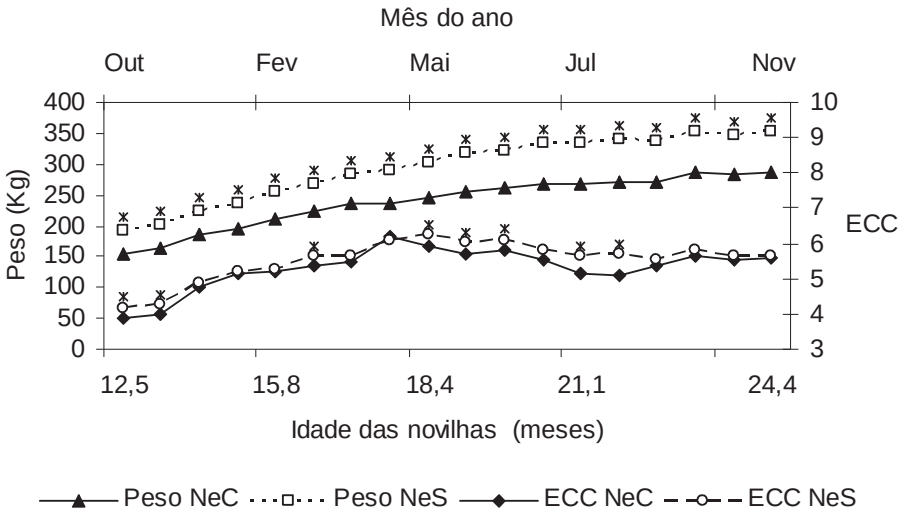


Figura 3. Médias ajustadas para peso e ECC dos rebanhos NeC e NeS (*p<0,05).

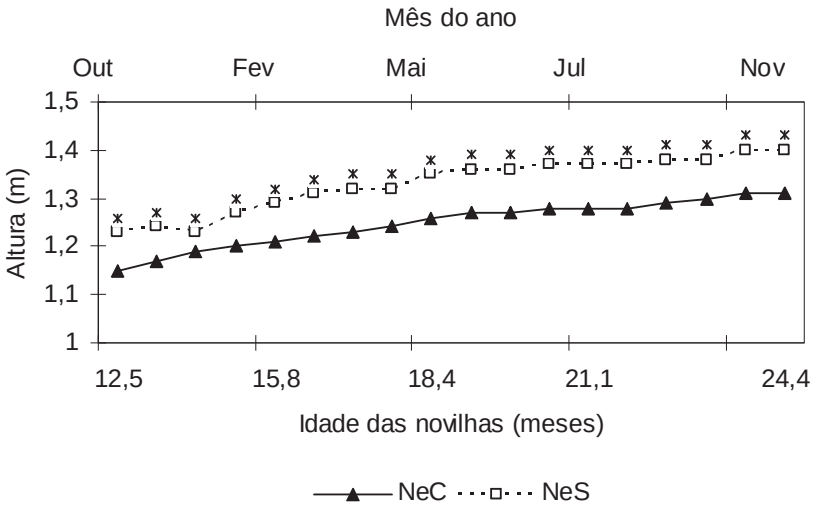


Figura 4. Médias ajustadas da ALTG (Altura da garupa) nos rebanhos NeC e NeS (*p<0,05).

Foi realizada a comparação dos pesos das novilhas não púberes e púberes dentro dos rebanhos. Na Tabela 4 estão apresentadas às médias ajustadas (± erro padrão) das novilhas não púberes e púberes para idade (meses), altura (metro), ECC, peso ao nascer (PN), peso ao desmame (P210) e peso (kg) a

puberdade dos rebanhos NeC e NeS nascidas em 2006 e 2007. A idade, P210 e peso a puberdade, diferiu entre os grupos não púberes e púberes dentro dos rebanhos. Com isso foi observado que as novilhas púberes foram mais pesadas na desmama e manifestaram puberdade com menos idade e mais pesadas, que o grupo das novilhas não púberes, em ambos os rebanhos (Tabela 4). Entretanto, quando foi analisado o peso dos dois rebanhos juntos e de forma pontual, isto é, ponto a ponto, a partir do momento que as novilhas iniciaram a puberdade (18,4 meses até aos 24,5 meses de idade), o peso foi maior somente aos 18,4 meses nas novilhas púberes que nas não púberes, sendo similar entre as avaliações seguintes (Figura 5). Para ALTG no rebanho NeC, as novilhas púberes diferiram das não púberes, mas para o rebanho NeS não houve diferença significativa. Em relação ao ECC, não foi observado, no rebanho NeC, diferença significativa entre os grupos não púberes e púberes, mas para o rebanho NeS, as novilhas púberes foram diferentes das não púberes. E para o PN não foi encontrada diferença significativa entre as novilhas não púberes e púberes dentro dos rebanhos (Tabela 4). As novilhas do rebanho NeC manifestaram a puberdade com 23,35 meses pesando 296,86 kg, e o rebanho NeS com 22,77 meses e 343,52 kg (Tabela 4).

Tabela 4. Médias ajustadas (± erro padrão) da idade, altura (ALTG), ECC, peso ao nascer (PN), peso desmame (P210) e peso a puberdade em novilhas não púberes e púberes, dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007.

	NeC (n=46)		NeS (n=77)	
	Não Púbere (n=22)	Púbere (n=24)	Não Púbere (n=40)	Púbere (n=37)
Idade (meses)	24,18±0,17[a]	23,35±0,18[b]	23,99±0,20[a]	22,77±0,22[b]
ALTG (m)	1,30±0,008[a]	1,32±0,009[b]	1,38±0,007[a]	1,38±0,008[a]
ECC	5,47±0,09[a]	5,89±0,10[a]	5,35±0,10[a]	5,82±0,13[b]
PN (kg)	24,17±0,19[a]	24,37±0,42[a]	30,56±0,18[a]	30,86±0,43[a]
P210 (kg)	155,96±0,75[a]	161,14±1,80[b]	172,89±1,03[a]	180,70±2,43[b]
Peso puberdade (kg)*	276,75±6,00[a]*	296,86±6,40[b]	327,90±5,17[a]*	343,52±5,85[b]

Médias ajustadas seguidas de letras diferentes, nas linhas, dentro dos rebanhos, diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade.* Peso das novilhas que não manifestaram puberdade no final das avaliações.

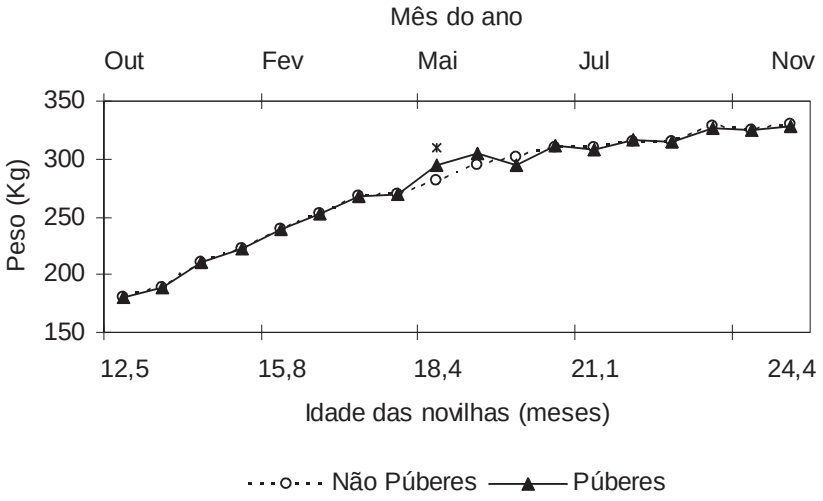


Figura 5. Médias ajustadas para peso (kg) das novilhas Nelore não púberes e púberes nos dois rebanhos associados (NeC e NeS, n=125) (*p<0.05).

5.2. Avaliação ultrassonográfica

As primeiras novilhas do rebanho NeS manifestaram puberdade a partir dos 18,27 meses, e as novilhas do rebanho NeC foram mais tardias, manifestando a puberdade a partir dos 20,46 meses de idade (Figura 6). Apesar das novilhas NeC

começarem a ciclar mais tardiamente que as NeS, aos 24,4 meses, não houve diferença significativa entre os rebanhos (NeC; 52%, NeS; 48%, p<0,05; Figura 6).

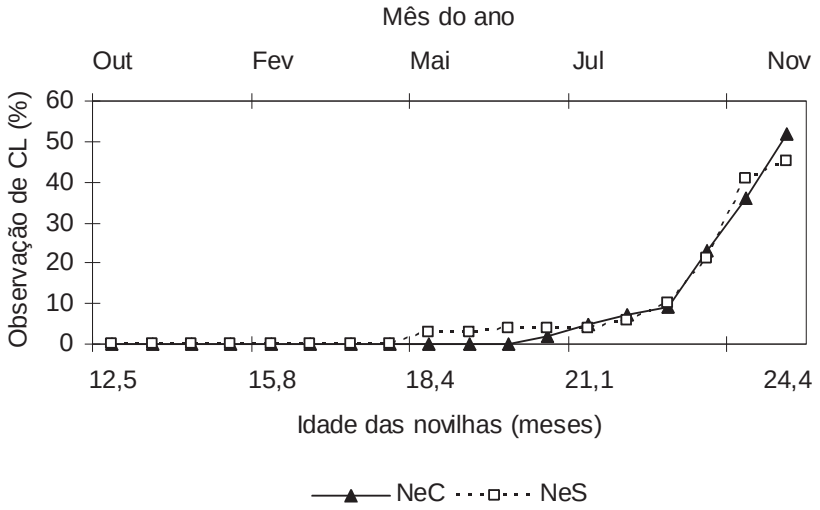


Figura 6. Médias ajustadas em porcentagem acumulada dos animais que atingiram a puberdade nos rebanhos NeC e NeS (*p<0.05).

Na Tabela 5 e 6 são apresentadas as médias gerais ajustadas para área do ovário direito (OD), esquerdo (OE) e média de ambos (XOV), diâmetro (mm) do maior folículo em ambos os ovários (FOLOD e FOLOE), diâmetro (mm) do CL presente em ambos os ovários (CLOD e CLOE) e a espessura do endométrio uterino (mm) nos rebanhos NeC e NeS, respectivamente. Nas novilhas nascidas em 2007, são apresentadas a quantidade de folículos considerados pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm) e tônus uterino (1 a 3).

Tabela 5. Médias gerais ajustadas (± erro padrão) da área do ovário direito (OD), diâmetro do maior folículo no ovário direto (FDOD), corpo lúteo no ovário direito (CLOD), área do ovário esquerdo (OE), diâmetro do maior folículo no ovário esquerdo (FDOE), corpo lúteo no ovário esquerdo (CLOE), média da área dos ovários (XOV) e espessura do endométrio uterino (ESP_ED), quantidade de folículos pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm) em novilhas do rebanho Nelore Controle (NeC) nascidas em 2006 e 2007.

	Observações	NeC (n=46)	Mínimo	Máximo
OD (cm^2)	839	3,41±0,84	1,2	6,8
FDOD (mm)	483	9,20±1,47	5,2	14,3
CLOD (mm)	29	14,98±2,48	7,8	19,3
OE (cm^2)	839	3,12±0,84	1,3	7,4
FDOE (mm)	285	9,27±1,46	5,7	15,4
CLOE (mm)	23	15,73±2,01	12,7	19,5
XOV (cm^2)	839	3,27±0,79	1,25	7,1
ESP_ED (mm)	820	10,10±1,17	6,8	13,2
FOL Pequenos (n)*	497	39,55±13,76	10	80
FOL Médios (n)*	497	3,04±2,54	0	13
FOL Grandes (n)*	497	1,11±0,73	0	4
Tônus úterino*	1127	1,4±0,03	1	3

* Medidas analisadas somente em novilhas nascidas em 2007

Tabela 6. Médias gerais ajustadas (± erro padrão) da área do ovário direito (OD), diâmetro do maior folículo no ovário direto (FDOD), corpo lúteo no ovário direito (CLOD), área do ovário esquerdo (OE), diâmetro do maior folículo no ovário esquerdo (FDOE), corpo lúteo no ovário esquerdo (CLOE), média da área dos ovários (XOV) e espessura do endométrio uterino (ESP_ED), quantidade de folículos pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm) em novilhas do rebanho Nelore Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007.

	Observações	NeS (n=77)	Mínimo	Máximo
OD (cm^2)	1385	3,45±0,81	1,2	6,8
FDOD (mm)	865	9,53±1,46	6,3	17,3
CLOD (mm)	40	15,25±2,47	10,2	24,4
OE (cm^2)	1385	3,13±0,77	1,2	6,8
FDOE (mm)	557	9,44±1,52	5,7	16,6
CLOE (mm)	46	16,21±1,74	12,2	21,2
XOV (cm^2)	1385	3,29±0,72	1,20	6,3
ESP_ED (mm)	1278	10,24±1,19	7,3	14,6
FOL Pequenos (n)*	630	39,35±14,33	5	90
FOL Médios (n)*	630	3,61±2,70	0	15
FOL Grandes (n)*	630	1,21±0,84	0	5
Tônus úterino*	1127	1,4±0,02	1	3

* Medidas analisadas somente em novilhas nascidas em 2007

A área média dos ovários não diferiu entre as avaliações nos rebanhos NeC e NeS (Figura 7, esquerda), mas quando foram avaliadas todas as novilhas (os dois rebanhos juntos), as que manifestaram puberdade apresentaram maior tamanho médio dos ovários, a partir da 11º avaliação (19,7 meses) quando comparando com as não púberes (Figura 7, direita). A área média dos ovários das novilhas que manifestaram puberdade foi de 4,14±0,06cm^2 e das não púberes de 3,13±0,03cm^2 (p<0,001, Figura 7, Direita).

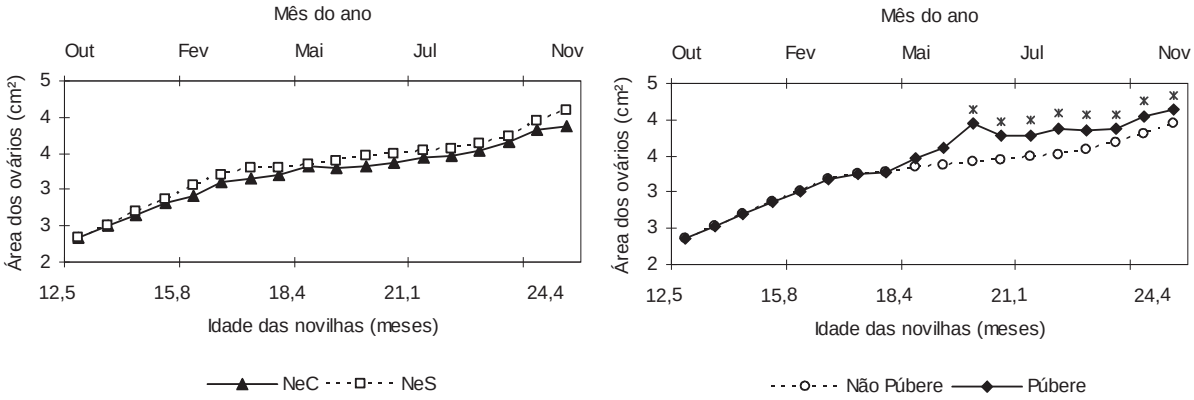


Figura 7. Comparação das médias ajustadas do aumento da área dos ovários (cm^2) nos rebanhos NeC e NeS (Esquerda) e nas novilhas não púberes e púberes (Direita) (*p<0.05) de 12 a 24 meses.

A espessura do endométrio uterino do rebanho NeS foi maior que o NeC (p<0,05) somente na terceira avaliação (14,4 meses), mostrando crescimento retilíneo da espessura do endométrio uterino em ambos os rebanhos (Figura 8, Esquerda). Na última avaliação, os rebanhos NeC e NeS, apresentaram 11,74 e 11,80mm de espessura do endométrio uterino, respectivamente (p>0,05). Os rebanhos foram agrupados e analisados por manifestação de puberdade e foi observado que as novilhas púberes diferiram das não púberes, para espessura do endométrio uterino (p<0,05), em todas as avaliações após manifestarem puberdade (Figura 8, Direita). A espessura do endométrio uterino das novilhas que

manifestaram puberdade foi de 12,15±0,08mm e das não púberes 9,93mm (p<0,001, Figura 8, Direita).

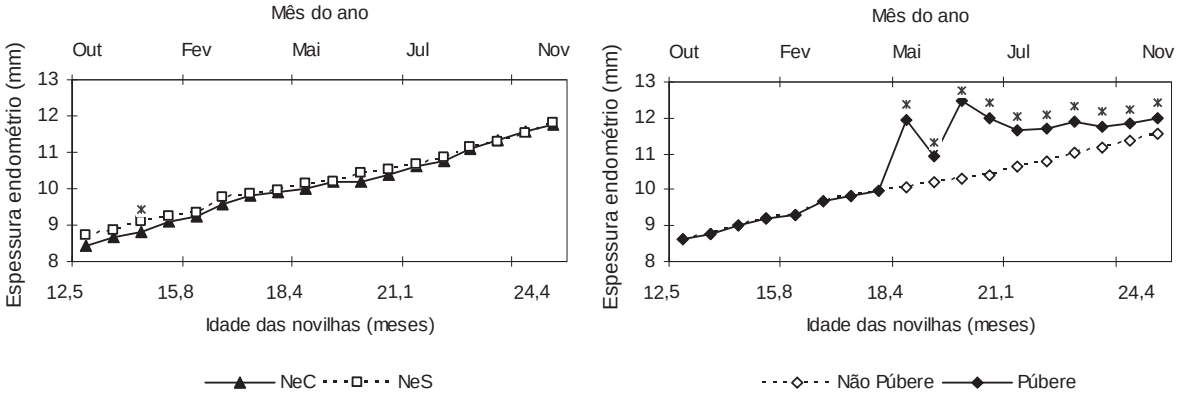


Figura 8. Comparação das médias ajustadas do aumento da espessura do endométrio uterino nos rebanhos NeC e NeS (Esquerda) e nas novilhas não púberes e púberes (Direita) (*p<0.05) de 12 a 24 meses.

Nas avaliações ultrassonográficas foi mensurado sempre o diâmetro do maior folículo presente (folículo maior; FOLMAIOR) em ambos os ovários (Figura 9). O rebanho NeS diferiu do NeC para o FOLMAIOR nas seguintes avaliações: na 4º (15,1 meses), 6º (16,4 meses), 7º (17,1 meses), 8º (17,7 meses), 11º (19,7 meses), 13º (21,1 meses), 14º (21,7 meses) e 17º (23,8 meses) avaliação (Figura 9, Esquerda). Na Figura 9, direita, o diâmetro do FOLMAIOR foi maior na 9º (18,4 meses) e 11º avaliação (19,7 meses) nas novilhas púberes, mas na 16º (23,1 meses) e 17º avaliação (23,8 meses), as novilhas não púberes apresentaram FOLMAIOR maior que as púberes. O diâmetro folicular das novilhas que manifestaram puberdade foi de 9,6±0,14mm e das não púberes 9,19±0,06mm (p<0,001, Figura 9, Direita).

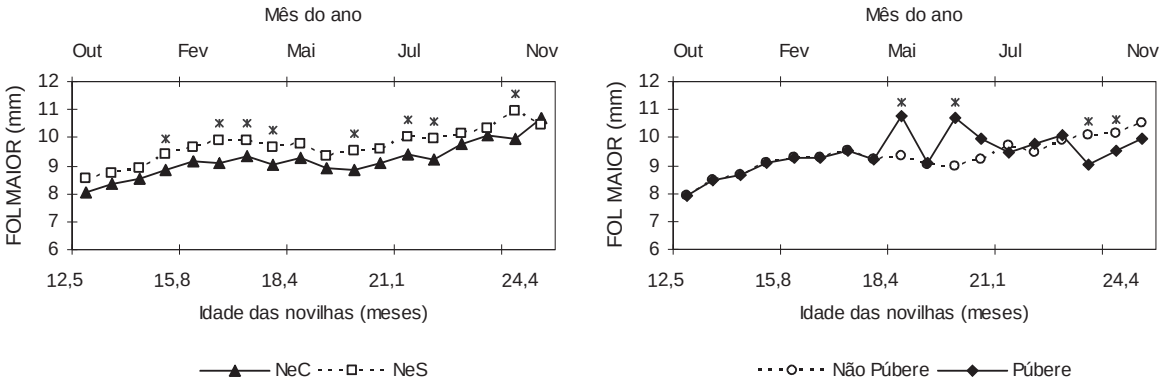


Figura 9. Comparação das médias ajustadas do diâmetro do maior folículo (FOLMAIOR) nos rebanhos NeC e NeS (Esquerda) e nas novilhas não púberes e púberes (Direita) (*p<0.05) dos 12 aos 24 meses.

Na análise de regressão das características reprodutivas estudadas sobre cada avaliação (1-18), observou-se um aumento de 0,10±0,004cm^2 de área de ovário, 0,18±0,01mm de espessura do endométrio uterino e 0,10±0,01mm do maior folículo para cada avaliação.

No segundo período do experimento (2008/2009) foi realizada a contagem da população folicular em ambos os rebanhos e também avaliado por palpação retal a tonicidade do útero (escore 1-3). Os folículos considerados pequenos (<4mm, Figura 10A) não apresentaram diferença significativa entre os rebanhos, entretanto os folículos considerados médios (entre 4 e 8mm, Figura 10B) e grandes (>8mm, Figura 10C) diferiram entre os rebanhos em idades. O rebanho NeS apresentou maior quantidade de folículos médios em todas as idades, sendo significativo aos 12,5, 15,8 e 20,4 meses, que o rebanho NeC e, para os folículos considerados grandes (>8mm) somente aos 13,3 meses de idade (Figura 10B e 10C, respectivamente)

No rebanho NeC, não foi observado diferença na quantidade dos folículos pequenos (<4mm) e médios (entre 4 e 8mm) entre as novilhas não púberes e púberes, mas para os folículos grandes (>8mm) as novilhas não púberes

apresentaram maior quantidade de folículos (1,21±0,04) que as púberes (0,75±0,12) (Tabela 7). Todavia, para o rebanho NeS a população folicular apresentou diferença significativa em todas as categorias avaliadas (Tabela 7). As novilhas NeS púberes apresentaram maior quantidade de folículos pequenos (< 4mm; 47,00±2,45) que as não púberes (40,74±0,68), mas para os folículos médios (entre 4 e 8mm) e grandes (> 8mm), as novilhas não púberes apresentaram maior quantidade (folículos médios; púberes=2,52±0,45 e não púberes=3,57±0,12, folículos grandes; púberes=0,91±0,15 e não púberes=1,23±0,04, Tabela 8).

Outra medida incorporada no segundo período foi a avaliação do tônus uterino por palpação retal. Para avaliação da tonicidade do útero, os rebanhos não apresentaram diferença significativa (Figura 10D), entretanto, dentro dos rebanhos, as novilhas púberes apresentaram maior tônus que as novilhas não púberes, em ambos os rebanhos (NeC; púberes=2,68±0,09 e não púberes=1,29±0,03, NeS; púberes=2,76±0,1 e não púberes=1,33±0,03, Tabela 7 e 8).

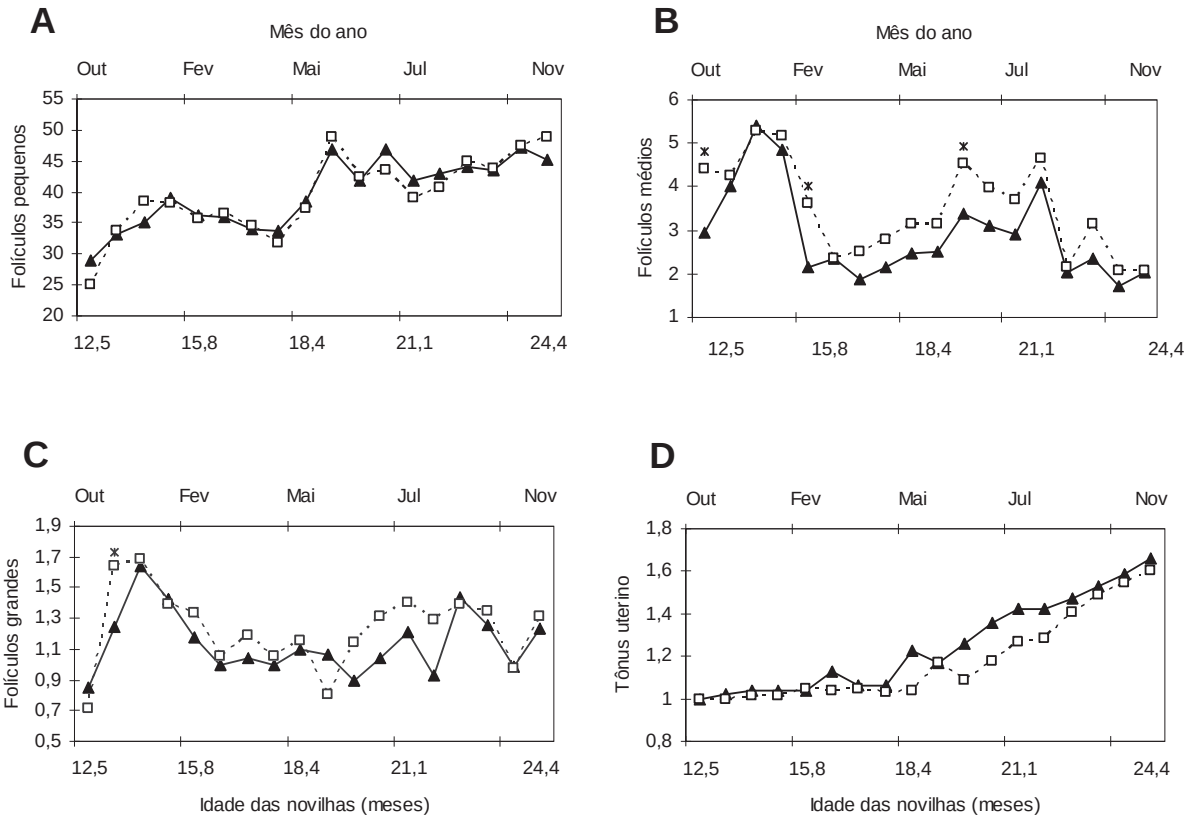


Figura 10. Médias ajustadas para a quantidade de folículos pequenos (A), médios (B) e grandes (C) e escore do tônus uterino (D) nos rebanhos NeC (▲) e NeS (□) (*p<0.05).

Tabela 7. Comparação da quantidade de folículos e tônus uterino em novilhas não púberes e púberes do rebanho Nelore Controle nascidas em 2007.

	Não Púberes (n=22)	Púberes (n=24)	P
Folículos <4mm*	39,08±0,75[a]	39,16±2,25[a]	0,97
Folículos 4-8mm *	3,04±0,13[a]	2,68±0,40[a]	0,37
Folículos >8mm *	1,21±0,04[a]	0,75±0,12[b]	0,01
Tônus do útero*	1,29±0,03[a]	2,68±0,09[b]	0,01

Médias ajustadas seguidas de letras diferentes, nas linhas, dentro dos rebanhos, diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade.
* Medida realizada somente no segundo período (novilhas nascidas em 2007).

Tabela 8. Comparação da quantidade de folículos e tônus uterino em novilhas não púberes e púberes do rebanho Nelore Seleção nascidas em 2007.

	Não Púberes (n=40)	Púberes (n=37)	P
Folículos <4mm*	40,74±0,68[a]	47,00±2,45 [b]	0,01
Folículos 4-8mm *	3,57±0,12[a]	2,52±0,45[b]	0,01
Folículos >8mm *	1,23±0,04[a]	0,91±0,15[b]	0,03
Tônus do útero*	1,33±0,03[a]	2,76±0,1[b]	0,01

Médias ajustadas seguidas de letras diferentes, nas linhas, dentro dos rebanhos, diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade.
* Medida realizada somente no segundo período (novilhas nascidas em 2007).

5.3. Quantificação hormonal

5.3.1. Quantificação de Progesterona para a avaliação da ciclicidade

As amostras de plasma sanguíneo das novilhas que apresentaram CL nas imagens de US foram avaliadas em dois períodos; um período anterior a elas apresentarem CL no US (confirmar que elas não estavam ciclando) e de forma pontual, isto é, quando apresentaram CL nas imagens de US para confirmar a ciclicidade. As amostras de plasma sanguíneo das novilhas que não apresentaram

CL nas imagens foram avaliadas apenas na última avaliação para confirmar que não estavam ciclando.

A quantidade de progesterona sérica nas novilhas que apresentaram puberdade foi maior no rebanho NeS que o NeC (6,70±0,41 e 5,27±0,33, respectivamente; p<0,001, Tabela 9). Entretanto, não houve diferença entre os rebanhos na quantidade de progesterona sérica nas novilhas que não apresentaram puberdade no final do trabalho (p=0,93, Tabela 9).

Tabela 9. Média ajustada (± erro padrão) da dosagem sérica de progesterona (ng/ml) em novilhas púberes e não púberes dos rebanhos Nelore Controle (NeC) e Seleção (NeS) nascidas em 2006 e 2007.

Rebanho	Púberes (n=61)	Não Púberes (n=62)
NeC (n=46)	5,27±0,33[a] (n=24)	0,51±0,33[c] (n=22)
NeS (n=77)	6,70±0,41[b] (n=37)	0,56±0,43[c] (n=40)

Médias ajustadas seguidas de letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente entre si pelo teste de Pdiff a 5% de probabilidade.

6. DISCUSSÃO

6.1. Padronização das imagens obtidas para avaliação dos ovários e espessura do endométrio uterino

No primeiro momento, realizou-se neste estudo, a padronização das imagens para avaliação dos ovários, suas estruturas e corno uterino, com o objetivo de se obter as melhores e mais confiáveis imagens para posterior avaliação pelo programa Echo Image Viewer 1.0 (Pie Medical Equipament B.V. 1996) com precisão de uma casa decimal. Com isso, antes de iniciar as primeiras avaliações foi realizado, em peças de abatedouro, a mensuração de várias imagens do corno uterino de novilhas e vacas. Foi posicionado o transdutor transretal (Pie Medical, Áquila, transdutor 6.0 MHz) na posição longitudinal e transversal e gravado várias imagens do corno uterino direito. Com as imagens, posicionando o transdutor no terço médio do corno uterino, na posição transversal, observaram-se diferenças de tamanho no diâmetro do corno uterino e difícil posicionamento no mesmo. Nas imagens posicionando o transdutor longitudinalmente, foram observadas imagens mais confiáveis com menor probabilidade de erro de posicionamento no animal in vivo. Portanto, decidiu-se, baseando-se em peças de abatedouro, que a melhor maneira de avaliar o desenvolvimento dos ovários e útero de novilhas pré-púberes seria mensurando a espessura do endométrio uterino, posicionando o transdutor em cima do corno uterino e de forma suave (sem pressão) para visualizar a imagem longitudinalmente (espessura do endométrio uterino). Conforme os animais foram se desenvolvendo, a manipulação do aparelho reprodutor (útero e ovários) por palpação retal ficou mais fácil, melhorando o posicionamento do transdutor no corno uterino direito. Os autores, FERREIRA et al. (1999), HONARAMOOZ et al. (2004), SALES et al. (2008), JOHNSTON et al. (2009) e CLARO JUNIOR et al. (2010) apenas relataram que foi mensurado o diâmetro do corno uterino, em novilhas in vivo, sem, contudo, mencionar o posicionamento do transdutor para obtenção das imagens.

6.2. Medidas reprodutivas e manifestação da puberdade

Uma das principais questões abordadas no presente trabalho foi em relação se o ganho genético para peso influenciou e/ou interferiu nos aspectos relacionados à reprodução animal. MERCADANTE et al. (2003) avaliaram a resposta direta no peso ao sobreano com desempenho reprodutivo (dias ao parto e sucesso ao parto) de vacas nos rebanhos NeS e NeC. Os autores concluíram que a seleção para peso promoveu uma alta e consistente resposta para peso e altura ao sobreano, sem alterar o desempenho reprodutivo de vacas em relação ao dias e sucesso ao parto. Neste estudo, avaliaram-se animais nascidos entre 1993 e 1996. Avaliando animais dos mesmos rebanhos, mas nascidos entre 1997 e 2002, RAZOOK & MERCADANTE (2007) observaram diferença na taxa de sucesso ao parto, sendo que a taxa para o rebanho NeC foi superior ao rebanho NeS. Os autores sugeriram duas possíveis razões para essa mudança. A primeira seria que com o passar das gerações de seleção para peso pós-desmama, a diferença de peso entre fêmeas selecionadas e controle aumentou e, possivelmente, as exigências nutricionais também, influenciando nos resultados reprodutivos. A segunda é que houve nos últimos anos, uma queda acentuada na disponibilidade e qualidade das pastagens na EEZS por várias razões, sendo uma delas o pouco investimento na manutenção da qualidade das pastagens, prejudicando o desenvolvimento dos animais, os índices de gestações e, consequentemente o andamento do projeto de melhoramento genético (RAZZOK & MERCADANTE, 2007). Com isso, investigar e avaliar mudanças nas características reprodutivas de forma mais específica e profunda desses dois rebanhos torna-se fator importante para a continuação e aperfeiçoamento do projeto de melhoramento na EEZS.

Nas avaliações através de ultrassonografia em novilhas pré-púberes dos rebanhos NeC e NeS , não foram observadas diferenças entre os rebanhos nas características reprodutivas estudadas (ovários e cornos uterinos), principalmente na manifestação da puberdade antes de iniciarem a estação de monta, por volta dos 24 meses de idade.

A espessura do endométrio uterino das novilhas NeS foi maior do que as novilhas NeC somente na 3º avaliação aos 14,4 meses de idade ($p<0,05$). Nas dezoito avaliações, nas progênies nascidas em 2006 e 2007, foi observado crescimento retilíneo em ambos os rebanhos para espessura do endométrio uterino. Na última avaliação (aos 24,4 meses de idade), os rebanhos NeC e NeS, apresentaram valores muito próximos para espessura do endométrio uterino (11,74 e 11,80mm, respectivamente, $p>0,05$).

A área dos ovários foi outra medida importante avaliada e que não apresentou diferença entre os rebanhos NeS e NeC em todas as avaliações, ao contrário do diâmetro do maior folículo, que apresentou diferença significativa em algumas medidas e, sempre o rebanho NeS mostrou-se superior ao rebanho NeC, embora na ultima avaliação, aos 24,4 meses de idade, os rebanhos não diferiram entre si (NeS=10,45 mm; NeC=10,70 mm, $p>0,05$).

A primeira novilha a apresentar CL nas avaliações por US e, confirmado posteriormente por quantificação de P4 através de radioimunoensaio, foi do rebanho NeS aos 18,4 meses (9º avaliação).,No rebanho NeC ocorreu somente aos 20,4 meses (12º avaliação). Entretanto, na última avaliação aos 24,4 meses (18º avaliação) ambos os rebanhos apresentaram percentual de animais em puberdade muito similar; 52,1% (24/46) e 48,0% (37/77) para os rebanhos NeC e NeS, respectivamente. Para essas características reprodutivas avaliadas e manifestação da puberdade ao final do trabalho (24,4 meses), foi observado que não ocorreu diferença significativa nas avaliações entre os rebanhos. Com isso, foi somado todas as novilhas de ambos os rebanhos (NeC e NeS) e realizadas as análises de todas as características reprodutivas por manifestação de puberdade, isto é, foram analisadas as novilhas não púberes e as púberes, somando-se os rebanhos (NeC e NeS). As novilhas que manifestaram puberdade apresentaram 12,15±0,08 mm de espessura do endométrio uterino e diferiram das não púberes que apresentaram 9,93±0,04 mm ($p<0,001$). Isto demonstra que o aumento na espessura do endométrio uterino passa a ser significante após a manifestação do primeiro estro com conseqüente ovulação e aumento dos níveis de progesterona.

A avaliação do escore do trato reprodutivo (ETR) foi uma técnica desenvolvida por pesquisadores da Universidade do Colorado, EUA, (ANDERSON et al., 1991) como um método indicador da puberdade em novilhas. Um dos parâmetros utilizados por esses pesquisadores é o diâmetro do corno uterino. Neste caso, para as novilhas atingirem a puberdade seria necessário ter no mínimo 30mm de diâmetro de corno uterino, com bom tônus para novilhas taurinas (ANDERSON et al., 1991; HOLM et al., 2009) e 25mm para novilhas Zebuínas (FERREIRA et al., 1999), muito diferente do observado no presente trabalho, no qual as novilhas ciclaram obtendo 12,15mm de espessura do endométrio uterino. Essa diferença deve-se possivelmente, ao fato que as novilhas foram avaliadas de modo subjetivo, utilizando método de palpação retal, diferente do presente trabalho, no qual foi utilizado a ultrassonografia, que é um método mais preciso e eficaz. Recentemente, e utilizando ultrassonografia como método de analisar os cornos uterinos, SALES et al. (2008) e JOHNSTON et al. (2009) relataram 13,9±0,3 e 13,5±3,8mm de diâmetro do corno uterino em novilhas Zebuínas entre 24 e 27 meses de idade, valores que se aproximam mais aos observados no presente trabalho (12,15±0,08 mm). Importante ressaltar que neste trabalho foi padronizado como método de analise a espessura do endométrio uterino e não o diâmetro de corno uterino. Considerando animais criados a pasto, essa avaliação tem sido colocada como importante parâmetro para auxiliar no momento de iniciar um programa de inseminação artificial e estação de monta natural, tanto em novilhas pré-púberes de origem taurina (ANDERSON et al., 1991; HOLM et al., 2009; JOHNSTON et al., 2009) quanto de origem zebuína (FERREIRA et al.,1999; SALES et al., 2008).

O desenvolvimento dos ovários foi acompanhado por US nas novilhas dos rebanhos NeC e NeS. Foi observado o desenvolvimento ovariano de modo crescente até aos 24 meses de idade, não havendo diferença significativa entre os rebanhos. Quando foram separadas novilhas púberes e não púberes, observou-se que as púberes apresentaram área de ovário maior que as não púberes (4,15±0,01 cm^2 e 3,15±0,01 cm^2, respectivamente, $p<0,001$). Esses resultados

corroboram com os relatados por ANDERSON et al. (1999), HOLM et al. (2009) e FERREIRA et al. (1999) que observaram maior porcentagem de manifestação de estro e posteriormente taxa de gestação em novilhas pré-púberes que apresentaram maior tamanho de ovário. HONARAMOOZ et al. (2004) relataram que o maior crescimento durante o desenvolvimento dos ovários acontece em dois momentos: o primeiro da 2º até a 14º semana de idade e novamente da 34º até a 60º semana de idade, posteriormente, seu tamanho não se altera até a novilha ovular. Esses resultados diferem do presente trabalho, no qual foi observado o crescimento contínuo no tamanho dos ovários até as novilhas manifestarem a puberdade.

O diâmetro folicular pré-ovulatório tem sido utilizado nos últimos anos como importante indicador de fertilidade em vacas e novilhas (PERRY et al., 2005, 2007), assim como um dos indicadores para avaliação do ETR (ANDERSON et al., 1991; HOLM et al., 2009). No presente trabalho, foi avaliado e mensurado sempre o diâmetro do maior folículo presente em ambos os ovários. As novilhas do rebanho NeS apresentaram maior diâmetro do maior folículo do que o rebanho NeC em oito das dezoitos avaliações, mas na ultima avaliação, aos 24,4 meses de idade, não apresentaram diferença significativa entre os rebanhos. Quando foram separadas em púberes e não púberes, as novilhas púberes apresentaram 9,56±0,15 mm de diâmetro folicular, diferindo das não púberes que apresentaram menor diâmetro folicular (9,19±0,06; $p<0,001$).

PERRY et al. (2005) relataram diminuição na taxa de gestação em vacas *Bos taurus* quando a ovulação foi induzida com GnRH e o diâmetro do folículo alcançou 11mm. Entretanto, os autores observaram que não houve influência na taxa de gestação quando a ovulação foi espontânea. Estudando novilhas *Bos taurus*, PERRY et al (2007) observaram melhores taxa de gestação em novilhas sincronizadas com GnRH e com ovulação espontânea quando o diâmetro do maior folículo ficou entre 10,7mm e 15,7mm e menores taxas de gestações quando o diâmetro do maior folículo ficou abaixo de 10,7mm e maior que 15,7mm.

Diferenças morfológicas existem entre folículos pré-ovulatórios de *Bos taurus* e *Bos indicus*. GIMENES et al. (2008) trataram novilhas *Bos indicus* apresentando folículos de diversos tamanhos (entre 7 e 8,4mm, 8,5 e 10mm e maiores que 10mm), com 25 mg de LH com o objetivo de determinar o diâmetro em que seus folículos adquirem capacidade ovulatória. Os autores observaram que 33% (3/9) das novilhas *Bos indicus* ovularam quando os folículos apresentaram diâmetro entre 7,0 e 8,4mm, e a resposta ao LH aumentou quando o diâmetro do folículo atingiu 8,5-10,0mm (80%) ou ultrapassou 10,0mm (90%). Estes resultados sugerem que em *Bos indicus* a capacidade ovulatória é adquirida em diâmetros menores do que em *Bos taurus*. No presente trabalho foi constatado que apesar das novilhas já apresentarem folículos com capacidade ovulatória, o diâmetro folicular foi maior nas novilhas púberes (9,56±0,15mm), comparando com as que não manifestaram a puberdade aos 24 meses de idade (9,19±0,06mm).

Outro indicador de fertilidade avaliado por ultrassonografia é o estudo da população de folículos antrais (ALVAREZ et al., 2000; CUSHMAN et al., 1999, 2009; IRELAND et al., 2008). Com esse método, avalia-se a reserva e a capacidade ovariana tendo como aplicação bom indicador de fertilidade e longevidade reprodutiva de fêmeas bovinas (ALVAREZ et al., 2000; IRELAND et al., 2008). Através da avaliação ultrassonográfica dos folículos antrais, neste trabalho foi possível determinar a quantidade de folículos, conforme o diâmetro, numa determinada população de novilhas contemporâneas que estão entrando em fase reprodutiva. Desta forma, foi observado o cenário de como se comporta a população folicular em novilhas pré-púberes dos 12 aos 24 meses. Com isso, foi avaliada a quantidade de folículos que teoricamente atingem capacidade ovulatória em novilhas dos rebanhos NeC e NeS, nascidas em 2007. Para determinar e facilitar a contagem da quantidade de folículos nas avaliações por US, os folículos foram divididos em três categorias: folículos pequenos (<4mm), médios (entre 4 e 8mm) e grandes (>8mm). A quantidade de folículos pequenos não apresentou diferença significativa entre os rebanhos NeC e NeS, em todas as avaliações. Em média apresentaram 39,55±13,76 e 39,35±14,33 folículos

pequenos para o rebanho NeC e NeS, respectivamente. ALVAREZ et al. (2000) realizaram contagem dos folículos antrais, semelhante ao do presente trabalho, em vacas das raças Brahman, Senepol e Angus. Os autores classificaram como folículos pequenos aqueles menores que 5mm, médios entre 6 e 8mm e grandes os folículos maiores que 9mm. Vacas da raça Brahman apresentaram maior quantidade de folículos pequenos (39±4) do que Angus (21±4) e Senepol (33±4) (ALVAREZ et al., 2000). Estes valores, para folículos pequenos (<4mm), estão muito próximos dos relatados no presente trabalho (39,16±2,25) em novilhas Nelore. A quantidade de folículos de tamanho médio apresentou grande variação nas avaliações ao decorrer do experimento, em ambos os rebanhos, tendo o rebanho NeS apresentado maior quantidade de folículos médios na 1º (4,41±0,38 vs 2,93±0,43), 5º (3,61±0,38 vs 2,17±0,43) e 11º (4,53±0,38 vs 3,39±0,43) avaliação em relação ao rebanho NeC. Na ultima avaliação, aos 24,4 meses, os rebanhos NeC e NeS, apresentaram respectivamente, 2,04±0,44 e 2,06±0,40, não ocorrendo diferença entre eles. Esses resultados são semelhantes ao encontrado em vacas Angus (2,3±0,7), mas menores que os relatados em vacas da raça Senepol (3,9±0,7) e Brahman (5,0±0,7) (ALVAREZ et al., 2000). Foi observado que alguns folículos de novilhas pré-púberes de ambos os rebanhos, possuem capacidade ovulatória, sendo realizada a contagem da quantidade desses folículos. Como observado com os folículos médios, os folículos grandes apresentaram grande variação na quantidade durante o período estudado. O rebanho NeS apresentou maior quantidade de folículos grandes somente na segunda avaliação em relação ao rebanho NeC (1,64±0,12 vs 1,25±0,14, $p<0,04$). Na última avaliação, os rebanhos não diferiram significativamente entre si, apresentando 1,23±0,15 e 1,31±0,13 folículos grandes, para os rebanhos NeC e NeS, respectivamente. Com esta avaliação realizada nas novilhas nascidas em 2007, foi observado que em ambos os rebanhos, os animais já possuem em média, mais do que um folículo acima de 8mm de diâmetro, valores acima do observado em vacas Angus (0,9±0,2), similares a vacas Senepol (1,2±0,2) e um

pouco abaixo ao observado em vacas Zebuínas da raça Brahman (1,6±0,2) (ALVAREZ et al., 2000).

Outro parâmetro utilizado para determinar o escore do trato reprodutivo em novilhas e vacas foi a avaliação do tônus uterino por palpação retal. ANDERSON et al. (1991) determinaram que escore 1 e 2 não possuíam nenhum tônus uterino, escore 3; tônus médio, escore 4; bom tônus e escore 5; tônus túrgido. Essa avaliação foi adaptada por FERREIRA et al. (1999) e simplificada por CLARO JUNIOR et al. (2010) para novilhas zebuínas. No presente trabalho foi simplificado a avaliação do tônus uterino em três escores: escore 1; sem ou fraco tônus, escore 2; médio tônus e escore 3; tônus túrgido (excelente). Os rebanhos NeC e NeS não apresentaram diferença significativa no decorrer das avaliações. Entretanto, as novilhas púberes, em ambos e dentro dos rebanhos, apresentaram maior tonicidade quando comparado com as novilhas não púberes (NeC, não púbere; 1,29±0,03, púbere; 2,68±0,09 e NeS, não púbere; 1,33±0,03, púbere; 2,76±0,1). Esses dados corroboram com publicações que foi utilizado o tônus uterino no ETR para determinar a proximidade e maturidade sexual de novilhas (ANDERSON et al., 1991; MARTIN et al., 1992; FERREIRA et al., 1999; JOHNSTON et al., 2009; HOLM et al., 2009; CLARO JUNIOR et al., 2010).

A contagem da quantidade de folículos antrais em novilhas e vacas, incluindo o número total de folículos pequenos, médios, grandes e presença de corpo lúteo, juntamente com as características estudadas e avaliadas do trato reprodutivo, fornece melhores parâmetros para avaliar, principalmente, novilhas pré-púberes antes da entrada da sua primeira estação de monta natural. Com isso, é possível identificar as novilhas pré-púberes de maior fertilidade e que possam produzir maior número de bezerros em sua vida reprodutiva.

6.3. Medidas de desenvolvimento corporal e manifestação da puberdade

A idade que ocorre a primeira cobertura e concepção são determinantes primários da produtividade das novilhas, e a idade à puberdade é o principal fator que determina a competência da fêmea em sua primeira estação de monta. A idade em que o animal inicia a puberdade é influenciada por diversos fatores, os quais incluem ambiente, peso corporal, fotoperíodo, raças, heteroses, temperatura, nutrição, bem como taxa de crescimento antes e após a desmama. As novilhas, de ambos os rebanhos (NeC e NeS), mantiveram ganho de peso, condição corporal e crescimento a pasto, exceto no início do experimento e nos meses de julho e agosto, conseqüência da seca, que apesar de em média não perderem peso nem ECC, também não ganharam. O rebanho NeS diferiu do NeC em peso, PN, P210 e ALTG em todas as medidas ($p<0,05$). Na avaliação do ECC o rebanho NeS apresentou-se em melhores condições na 1º, 2º, 6º, 9º, 10º, 11º, 13º e 14º avaliação ($p<0,05$) em relação ao rebanho NeC. Com esses resultados foi observado a diferença entre os rebanhos para crescimento e peso, desde o PN até o peso final do experimento, ratificando a importância e o resultado do programa de melhoramento genético da EEZS. Esses dados corroboram com vários trabalhos comparando o desenvolvimento para crescimento entre os rebanhos NeC e NeS (MERCADANTE et al., 2003; RAZOOK & MERCADANTE, 2007; MERCADANTE & RAZOOK, 2010).

Quando foram comparados os pesos das novilhas não púberes e púberes dentro dos rebanhos, o PN não diferiu entre os grupos púberes e não púberes, mas para o P210 (peso desmame), as novilhas que atingiram puberdade eram mais pesadas ($p<0,05$), do que as que não atingiram a puberdade ao final do trabalho. Também foi relatado no presente trabalho, que as novilhas manifestaram puberdade com maior peso e idade menor. Entretanto quando foi analisado, ponto a ponto a partir do momento que as novilhas iniciaram a manifestação da puberdade, isto é a partir da 9º avaliação (18,4 meses), não foi observada diferença significativa entre os pesos das púberes e não púberes, com exceção na 9º avaliação. ROBERTS et al. (2007) relataram que a idade à puberdade é mais

afetada pela taxa de crescimento antes da desmama e nas fases iniciais após a desmama que o crescimento imediatamente antes da cobertura. No presente trabalho, foi observado que a taxa de crescimento antes da desmama influenciou a manifestação da puberdade em ambos os rebanhos, tendo o rebanho selecionado para peso (NeS) iniciado a manifestação de puberdade mais precocemente e com maior peso que o rebanho não selecionado (NeC).

O peso médio ajustado para as novilhas que atingiram a puberdade foi de 296,86±6,40 e 343,52±5,85 kg, aos 23,35±0,18 e 22,77±0,22 meses, para os rebanhos NeC e NeS, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com encontrados na literatura nacional que indicam a idade à puberdade para novilhas zebuínas ao redor de 22 a 36 meses, e a idade ao primeiro parto ao redor de 44 a 48 meses de idade (SILVA & PEREIRA, 1986; MANZANO et al., 1993; SOUZA et al., 1995, ROMANO et al.,2007). A idade à puberdade em novilhas está diretamente relacionada ao seu peso e condição corporal. Segundo FERREL. (1991), novilhas que consomem maior quantidade de energia e apresentam maior taxa de ganho de peso diário atingem a puberdade com menor idade e isto foi observado no presente estudo, no qual as novilhas, de ambos os rebanhos, atingiram a puberdade mais cedo e mais pesadas que as não púberes. Os fatores ambientais, principalmente o nível de alimentação, escore de condição corporal, peso, os ganhos de peso pré e pós-desmama são condições importantes na redução da idade à puberdade (PATTERSON et al., 1992; LOBATO, 1998). A nutrição pós desmame desempenha papel crítico na determinação da idade à puberdade (THALLMAN et al., 1999). A influência de diferentes tipos de dietas no período após o desmame sobre a idade à puberdade tem sido bastante estudada (GASSER et al., 1996; THALLMANN et al., 1999; SEMMELMANN et at., 2007; GOJJAM et al., 2011). Esses estudos mostram o efeito da alimentação, com diferentes tipos de dietas, no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore. No presente trabalho, as novilhas que atingiram a puberdade apresentaram-se mais pesadas ao desmame (P210), em ambos os rebanhos, ao contrário das novilhas que não atingiram a puberdade que se mostraram mais

leves na desmama. No rebanho NeC, as novilhas púberes, na desmama (P210) pesavam 161,14±1,80 kg e as não púberes 155,96±0,75 kg, uma diferença de 5,2 kg, já no rebanho NeS, as púberes pesavam 180,70±2,43 kg na desmama (P210) e as não púberes 172,89±1,03 kg, com uma diferença de 7,8 kg.

É importante salientar que um dos principais motivos para o aparecimento tardio da puberdade nos rebanhos zebuínos é a sazonalidade da produção de forrageiras, o manejo deficiente de pastagens e a inexistência de suplementação alimentar durante o período de crescimento desses animais. Apesar de zebuínos serem mais tardios que os bovinos de raças taurinas, é possível reduzir a idade à puberdade através de manejo nutricional adequado. Em 2007, na EEZS, foram colocadas novilhas de 14 meses, dos rebanhos NeC e NeS, em estação de monta natural (EM) por 75 dias. Esses animais, participantes de um projeto de consumo residual alimentar, foram confinados e suplementados após a desmama por 140 dias. Após 40 dias da saída da EM foi realizada a palpação retal através de US e a taxa de gestação das novilhas foi de 28%. Portanto, aos 14 meses de idade as novilhas Nelore dos rebanhos NeC e NeS, iniciaram a puberdade em um sistema de suplementação alimentar em confinamento (MONTEIRO et al. dados não publicados). Esses resultados estão semelhantes aos relatados por DE LUCIA et al. (2002) que observaram 32% de novilhas Nelore gestante aos 15 meses de idade.

Recentemente, na EEZS, PINHEIRO et al. (2010) confinaram e suplementaram por 140 dias após a desmama, novilhas Nelore de uma linhagem para peso, semelhante ao rebanho NeS. Os autores relataram que aos 14 meses de idade, 21,3% das novilhas já apresentavam CL nas imagens através de US, e aos 24 meses de idade 71% das novilhas estavam ciclando. Esses resultados diferem do observado no presente trabalho, que aos 15 meses nenhuma das novilhas manifestou puberdade e aos 24 meses somente cerca de 50% das novilhas atingiu puberdade. Com esses resultados foi observada a importância da suplementação alimentar na fase pré e pós-demama em fêmeas Nelore, sendo que mesmo após as novilhas retornarem ao pasto, sofrendo uma restrição

alimentar devido a falta de disponibilidade de forrageiras, apresentaram maior porcentagem de CL ao US, comparando com aquelas novilhas que após o desmame foram mantidas e criadas a pasto. De acordo com estimativas de LANNA (2004), cerca de 50% das novilhas meio sangue zebuínas estariam aptas para a reprodução aos 15 meses de idade, quando alimentadas para obtenção de alto ganho de peso diário. Entretanto, em rebanhos Nelore, mesmo animais com mais de 2 anos de idade apresentam alta proporção de animais pré-púberes, provavelmente devido ao baixo peso corporal e falta de reservas de gordura (LANNA, 2004). Esses dados corroboram com os observados no presente trabalho que apenas 52% e 48% de novilhas manifestaram puberdade aos 24 meses de idade, nos rebanhos NeC e NeS, respectivamente.

7. CONCLUSÕES

- A seleção para peso não alterou as características reprodutivas avaliadas em novilhas criadas em um sistema de manejo a pasto.
- Entre os parâmetros avaliados (idade à puberdade, altura da garupa (ALTG), escore de condição corporal (ECC), peso ao nascer (PN), peso à desmama (P210) e peso a puberdade), apenas o peso a desmama e o peso à puberdade apresentaram efeito significativo positivo na manifestação do primeiro cio.
- No presente trabalho, a melhor época para se avaliar a manifestação da puberdade em novilhas Nelore pré-púberes criadas a pasto, foi aos 24 meses de idade.
- Dentre as medidas reprodutivas avaliadas, a área dos ovários, espessura do endométrio uterino e a tonicidade do útero podem ser utilizadas como parâmetros de seleção de novilhas para puberdade num sistema de manejo a pasto.

8. IMPLICAÇÕES

No presente trabalho, observou-se que a seleção para peso, desde 1981, não influenciou na manifestação da puberdade em novilhas Nelore criadas em um sistema de manejo a pasto. Aos 24 meses de idade os rebanhos seleção para peso e controle não apresentaram diferença na manifestação da puberdade e, aproximadamente 50% das novilhas apresentaram puberdade. Provavelmente, este alto índice de novilhas pré-púberes aos 24 meses, é conseqüência da severa restrição alimentar após o desmame, decorrente principalmente da baixa disponibilidade de forrageiras e falta de suplementação alimentar para o desenvolvimento das novilhas nos meses de seca. Avaliações da pré e puberdade em novilhas Nelore, nestes mesmos grupos experimentais submetidos à suplementação alimentar, logo após a desmama, deve ter seus reflexos na idade à puberdade.

Também foi observado que o útero é um importante parâmetro para se avaliar o início da puberdade sexual. Assim, avaliar a espessura do endométrio uterino por ultrassom e tonicidade do útero por palpação retal, antes da entrada da primeira estação de monta natural ou inseminação artificial, poderá beneficiar e melhorar os índices gestacionais em novilhas Nelore criadas a pasto. Para um programa de melhoramento genético a tomada de várias medidas da espessura do endométrio uterino, em um mesmo rebanho, deve ser uma característica indicadora de puberdade sexual em Novilhas Nelore.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.P.; EVANS, A.C.O.; RAWLINGS, N.C. Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility,** v.100, p.27–33,1994.

ADAMS, G.P. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility,** Supplement 54, p.17–32, 1999.

AHMAD, N.; TOWNSEND, E.C.; DAILEY, R.A.; INSKEEP, E.K. Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. **Animal Reproduction Science,** v.49, p.13–28, 1997.

ALVAREZ, P.; SPICER L.J.; CHASE JR, C.C.; PAYTON, M.E.; HAMILTON, T.D.; STEWART, R.E.; HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; WETTEMANN, R. P. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal of Animal Science,** v.78, p.1291–1302, 2000.

ANDERSON, K.J.; LEFEVER, D.G.; BRINKS, J.S.; ODDE, K.G. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. **Agri-Practice,** v.12, p.19-23, 1991.

ARIJE, G.F.; WILTBANK, J.N. Age and weight at puberty in Hereford heifers. **Journal of Animal Science,** v.33, p.401-406, 1971.

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

BERARDINELLI, J.G.; FORD, J.J.; CHRISTENSON, R.K.; ANDERSON, L.L. Luteinizing hormone secretion in ovariectomized gilts: effects of age, reproductive state and estrogen replacement. **Journal of Animal Science,** v.58, p.165-173, 1984.

BERETTA, V.; LOBATO, J.F.P. Sistema "Um Ano" de Produção de Carne: Avaliação de Estratégias Alternativas de Alimentação Hibernal de Novilhas de Reposição. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.27, n.1, p.157-163, 1998.

BRINKS, J.; MCINERNEY, M.J.; CHENOWETH, P.J. Relationship of age at puberty in heifers to reproductive traits in young bulls. **Proceedings of West Section of American Society of Animal Science,** v.29, p.28, 1978.

BURNS, B.M.; HOWITT, C.J.; WEBBER, R.J.; RUDDER, T.H.; TIERNEY, T.J.; O´ROURKE, P.K. Productivity of Hereford, highgrade Simmental and Belmont Red beef herds in central Queensland. 4. Liveweight and age of heifers at puberty. **Australian Journal Experimental Agriculture,**. v.32, n.8, p.1011-1015, 1992.

BUSKIRK, D.D.; FAULKNER, D.B.; IRELAND, F.A. Increased postweaning gain of beef heifers enhances fertility and milk production. **Journal Animal Science,** v.73, p.937-946, 1995.

CARATY, A.; FABRE-NYS, C.; DELALEU, B.; LOCATELLI, A.; BRUNEAU, G.; KARSCH, F.J.; HERBISON, A. Evidence that the mediobasal hypothalamus is the primary site of action of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin releasing hormone surge in the ewe. **Endocrinology,** v.139, p.1752–1760, 1998.

CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G.; AONO, F.H.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology,**

doi:10.1016/j.theriogenoloy.2010.04.15, Published online by Elsevier B.D. 21 May 2010.

COOKE, R.F.; ARTHINGTON, J.D. Plasma progesterone concentrations as puberty criteria for Brahman – crossbred heifers. **Livestock Science,** v.123, p.101–105, 2009.

COUSE, J.F.; KORACH, K.S. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? **Endocrine Reviews,** v.20, n.3, p.358-417, 1999.

CURLEY, K.O.; NEUENDORFF, D.A.; LEWIS, A.W.; CLEERE, J.J.; WELSH, T.H.; RANDEL, R.D. Functional characteristics of the bovine hypothalamic– pituitary–adrenal axis vary with temperament. **Hormones and Behavior,** v.53, p.20 –27, 2008.

CUSHMAN, R.A.; DESOUZA, J.C.; HEDGPETH, V.S.; BRITT, J.H. Superovulatory response of one ovary is related to the micro- and macroscopic population of follicles in the contralateral ovary of the cow. **Biology of Reproduction,** v.60, p.349–354, 1999.

CUSHMAN, R. A.; ALLAN, M. F.; KUEHN, L. A.; SNELLING, W.M.; CUPP, A. S.; FREETLY, H.C. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: Investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. **Journal of Animal Science,** v.87, p.1971-1980, 2009.

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; GARCIA-WINDER, M.; ZALESKY, D.D.; SCHANBACHER, B.D.; KITTOCK, R.J.; KINDER, J.E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers: estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction,** v.31, p.332–341, 1984.

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; WOLFE, P.L.; KITTOK, R.J.; KINDER, J.E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction,** v.37, p.1054–1065, 1987.

DAY, M.L.; ANDERSON, L.H. Current concepts on the controlo f puberty in catlle. **Journal of Animal Science,** v.76, p.1-15, 1998.

DE LUCIA, R.F.S.; PEREIRA, F.V.; NOGUEIRA, G.P. Follicular population in precocious and non precocious Nelore heifers during prepubertal period. **Theriogenology,** v.57 (Suppl. 1), p.603, 2002.

DEROUEN, S.M.; FRANKE, D.E.; MORRISON, D.G.; WYATT, W.E.; COOMBS, D. F.; WHITE, T.W.; HUMES, P.E.; GREENE, B.B. Prepartum Body Condition and Weight Influences on Reproductive Performance of First-Calf Beef Cows. **Journal of Animal Science,** v.72, p.119-1125, 1994.

DESJARDINS, C.; HAFS, H.D. Maturation of bovine female genitalia from birth through puberty. **Journal of Animal Science,** v.28, p.502–507,1969.

DIAS, L.T.; SILVA, J.A.II V.; ALBUQUERQUE, L.G. Heritability estimates of pregnancy in Nelore heifers. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 7, 2002, Montpellier. **Proceedings...** Montpellier, 2002b. I CD-ROM. 2002.

DOCKE, F.; ROHDE, W.; GERBER, P.; DORNER, G. Evidence that desensitization to the negative estrogen feedback is a prepubertal and not a postpubertal event in female rats. **Experimental Clinical Endocrinoloy,** v.84, p.1-6, 1984.

ELER, J.P.; SILVA, J.A. II V.; FERRAZ, 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.

ELER, J.P.; SILVA, J.A.II V.; EVANS, J.L.; FERRAZ, J.B.S.; DIAS, F.; GOLEEN, B.L. Additive genetic relationships between heifer pregnancy and scrotal circumference in Nellore cattle. **Journal of Animal Science,** v.82, p.2519–2527, 2004.

ELER, J.P. Estratégias para antecipar a puberdade em novilhas de corte. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4, 2004, Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa: UFV, p.449-458, 2004.

EMERICK, L.L.; DIAS, J.C.; GONÇALVES, P.E.M.; MARTINS, J.A.M.; LEITE, T.G.; ANDRADE, V.J.; VALE FILHO, V.R. Aspectos relevantes sobre a puberdade em fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,** v.33, n.1, p.11-19, 2009.

ERICKSON, B.H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science,** v.25, p.800–805, 1966.

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

FERREIRA, M.B.D.; LOPES, B.C.; DANTAS, M.S.; MOURÃO, G.B.; VALE FILHO, V.R. Escore do aparelho reprodutivo pré-estação de monta em novilhas Zebu aos dois anos de idade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,** v.23, n.3, p.160-162, 1999.

FERREL, C.L. Nutritional influences on reproduction. In P.T. Cupps. "**Reproduction in Domestic Animals**". 4th Edition. Academic Press, Inc. pp: 577-603. 1991.

FORDYCE, G.E.; DODT, R.M.; WYTHES, J.R. Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland. 1. Factors affecting temperament. **Australian Journal of Experimental Agriculture,** v.28, n.6, p.683–687, 1988.

FOSTER, D. L. Puberty in the sheep. In: E. Knobil and J. D. Neill (Ed,) **The Physiology of Reproduction** (2nd Ed.), p 411. Raven Press, New York, 1994.

FRIZZO, A.; ROCHA, M.G.; HOFFMAN, W.C.; ALVES, D.C.; PILAU, A.; NEVES, F.P. Puberdade em bezerras cruza Charolês-Nelore em pastagem de aveia e azevém com diferentes níveis de suplementação. (CDROM). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, **Anais...** Viçosa, SBZ, 2000.

GASSER, C.L.; BEHLKE, E.J.; GRUM, D.E.; DAY, M.L. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. **Journal Animal Science,** v.84, p. 3118–3122, 1996.

GIMESES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES JUNIOR, J.R.S.; SOUSA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in Bos indicus heifers. **Theriogenology,** v.69, p.852-858, 2008.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: minireview. **Biology of Reproduction,** v.55, p.1187–1194, 1996.

GOJJAM, Y.; TOLERA, A.; MESFIN, R. Management options to accelerate growth rate and reduce age at first calving in Friesian–Boran crossbred heifers. **Tropical Animal Health Production,** v.43, n.2, p.393-399, 2011..

GREGORY, K.E.; LASTER, D.B.; CUNDIFF, L.V.; SMITH, G.M.; KOCH, R.M. Characterization of biological types of cattle—cycle III: II. Growth rate and puberty in females. **Journal of Animal Science,** v.49, p. 461-471, 1979.

HALL, J.B.; STAIGMILLER, R.B.; BELLOWS, R.A.; SHORT, R.E.; MOSELEY, W.M.; BELLOWS, S.E. Body Composition and Metabolic Profiles Associated with Puberty in Beef Heifers. **Journal of Animal Science,** v.73, p.3409–3420, 1995.

HANSEN, P.J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science,** v.82/83, p.349-360, 2004.

HOFFMANN, B.; SCHULER, G. The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. **Domestic Animal Endocrinology,** v.23, p.309–320, 2002.

HOLM, D.E.; THOMPSON, P.N.; IRONS, P.C. The value of reproductive tract scoring as a predictor of fertility and production outcomes in beef heifers. **Journal of Animal Science,** v, 87, p.1934-1940, 2009.

HONARAMOOZ, A.; CHANDOLIA, R.K.; BEARD, A.P.; RAWLINGS, N.C. Effects of season of birth on the prepubertad pattern of gonadotrophin secretion and age at puberty in beef heifers. **Theriogenology,** v.52, p.67-79, 1999.

HONARAMOOZ, A.; ARAVINDAKSHAN, J.; CHANDOLIA, R.K.; BEARD, A.P.; BARTLEWSKI, P.M.; PIERSON, R.A.; RAWLINGS, N.C. Ultrasonographic

evaluation of the pre-pubertal development of the reproductive tract in beef heifers. **Animal Reproduction Science,** v.80, p.15-29, 2004.

IRELAND, J.L.H.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMMEN, A.P.N.; WARD, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; PEREZ, G.I.; EVANS, A.C.O.; IRELAND, J.J. Antral Follicle Count Reliably Predicts Number of Morphologically Healthy Oocytes and Follicles in Ovaries of Young Adult Cattle. **Biology of Reproduction,** v.79, p.1219-1225, 2008.

JOHNSTON, D.J.; BARWICK, S.A.; CORBET, N.J.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R.G.; WILLIAMS, P.J.; BURROW, H.M. Genetics of heifers puberty in two tropical beef genotypes in northern Australia and associations with heifers- and steer-production traits. **Animal Production Science,** v.49, p.399-412, 2009.

KINDER, J.E.; DAY, M.L.; KITTOK, R.J. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. **Journal Reproduction and Fertility,** Suppl. v.34, p.167-186, 1987.

LANNA, D.P. Fatores condicionantes e predisponentes da puberdade e da idade de abate. In: SIMPÓSIO SOBRE PECUÁRIA DE CORTE, 4., 2004, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba, p.41-78, 2004.

LASTER, D.B.; SMITH, G.M.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E. Characterization of biological types of cattle (Cycle II) II. Postweaning growth and puberty of heifers. **Journal of Animal Science,** v.48, p.500-508, 1979.

LOBATO, J.F.P. Considerações efetivas sobre seleção, produção e manejo para maior produtividade de rebanhos de cria. In: LOBATO, J.F.P.; BARCELLOS, J.O.J.; KESSLER, A.M. (Ed.). **Produção de bovinos de corte**. Porto Alegre: EDI-PUCRS, 1.ed, p.405-414, 1998.

MACNEIL, M.D.; GEARY, T.W.; PERRY, G.A.; ROBERTS, A.J.; ALEXANDER, L.J. Genetic partitioning of variation on ovulatory follicle size and probability of pregnancy in beef cattle. **Journal of Animal Science,** v.84, p.1646-1650, 2006.

MANZANO, A.; BARBOSA, P.F.; ALENCAR, M.M.; NOVAES, N.J. Influência da suplementação sobre o peso à puberdade e as idades à puberdade e aos trezentos quilos de fêmas da raça Canchim. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.22, nº2, p.341-349, 1993.

MARTIN, L.C.; BRINKS, J.S.; BOURDON, R.M.; CUNDIFF, L.V. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproductive. **Journal of Animal Science,** v.70, p.4006-4017, 1992.

MARTÍNEZ-VELÁZQUEZ, G.; GREGORY, K.E.; BENNETT, G.L.; VAN VLECK, L.D. Genetic relationships between scrotal circumference and female reproductive traits. **Journal of Animal Science,** v.81, p.395-401, 2003.

MAURER, R. R.; ECHTERNKAMP, S.E. Repeat-breeder females in beef cattle: Influences and causes. **Journal of Animal Science,** v.61, p.624–636, 1985.

MELVIN, E.J.; LINDSEY, B.R.; QUINTAL-FRANCO, J.; ZANELLA, E.; FIKE, K.E.; VAN TASSELL, C.P.; KINDER, J.E. Circulating concentrations of oestradiol, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone during waves of ovarian follicular development in prepubertal cattle. **Biology of Reproduction,** v.60, p.405–412, 1999.

MERCADANTE, M.E.Z.; PACKER, I.U.; RAZOOK, A.G.; CYRILLO, J.N.S.G.; FIGUEIREDO, L.A. Direct and correlated responses to selection for yearling weight on reproductive performance of Nelore cows. **Journal of Animal Science,** v.81, p.376-384, 2003.

MERCADANTE, M.E.Z.; RAZOOK, A.G. Programa de melhoramento genético do Instituto de Zootecnia. Sertãozinho, SP. **Bovinocultura de Corte,** v II, 44, p. 847-860. FEALQ, Piracicaba, SP, 2010.

MEZA-HERRERA, C.A.; GONXSLEZ-BULNES, A.; KRIDLI, R.T.; MELLADO, M.; ARECHIDA-FLORES, C.F.; SALINAS, H.; LUGINBUHL, J.M. Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signalling the onset of puberty in females. **Reproduction in Domestic Animals,** doi:10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x, 2009.

MILVAE, R.A.; HANSEL, W. Prostacyclin, prostaglandin F2 alpha and progesterone production by bovine luteal cells during the estrous cycle. **Biology of Reproduction,** v.29, 1063-1068, 1983.

MONTANHOLI, Y.R.; BARCELLOS, J.O.J.; BORGES, J.B.; COSTA, E.C.; WUNSH, C.; PRATES, Ê.R. Ganho de peso na recria e desempenho reprodutivo de novillas acasaladas com sobreano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.39, p.1253-1259, 2004.

MONTEIRO, F.M.; MELO, D.S.; FERREIRA, M.M.G.; CARVALHO, L.M.; SARTORELI, E.S.; EDERHARDT, B.G.; NOGUEIRA, G.P.; BARROS, C.M. LH surge in Nelore cows (*Bos indicus*), after induced estrus or after ovarian superestimulation. **Animal Reproduction Science,** v.110, p.128-138, 2009.

MORAN, C.; QUIRK, J.; ROCHE, J.F. Puberty in heifers: a review. **Animal Reproduction Science,** v.18, p.167-182, 1989.

MORRIS, C.A. A review of relationship between aspects of reproduction in beef heifers and their lifetime production. 1 - Associations with fertility in the first joining

season and age at first joining. **Animal Breeding Abstracts,** v.48, p.655-676, 1980.

NOGUEIRA, G.P. Puberty in South American Bos indicus (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science,** v.82–83, p.361–372, 2004.

OLIVEIRA, J.F.; NEVES, J.P.; MORAES, J.C.; GONÇALVES, P.B.D.; BAHR, J.M.; HERNANDEZ, A.G.; COSTA, L.F.S. Follicular development and steroid concentrations in cows with different levels of fertility raised under nutritional stress. **Animal Reproduction Science,** v.73, p.1-10, 2002.

PATTERSON, D.J.; PERRY, R.C.; KIRACOFE, G.H.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B.; CORAH, L.R. Management consideration in heifer development and puberty. **Journal of Animal Science,** v. 70, p.4018-4035, 1992.

PEREIRA, M.C.; MERCADANTE, M.E.Z.; RAZOOK, A.G.; FIGUEIREDO, L.A.; ALBUQUERQUE., L.G. Results of 23 years of selection for post-weaning weight in a Caracu beef herd. **South African Journal of Animal Science,** v.38, nº2, pp.136-144, 2008.

PERRY, R.C.; CORAH, L.R.; COCHRAN, R.C.; BRETHOUR, J.R.; OLSON, K.C.; HIGGINS, J.J. Effect of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Production Agriculture,** v.4, p.13-18, 1991.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; LUCY, M.C.; GREEN, J.A.; PARKS, T.E.; MACNEIL, M.D.; ROBERTS, A.J.; GEARY, T.W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences,** v.102, p.5268–5273, 2005.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; ROBERTS, A.J.; MACNEIL, M.D.; GEARY T.W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Science,** v. 85, p.684–689, 2007.

PINHEIRO, T.R.; MONTEIRO, F.M.; MAGNANI, E.; BRANCO, R.H.; MERCADANTE, M.E.Z.; GARCIA, J.M. Eficiência alimentar e suas relações com características do trato reprodutivo de fêmeas Nelore pré-púberes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, **Anais...**Salvador, BA, p.1-3, 2010.

QUINTANS, G.; STRAUMANN, J.M.; AYALA, W.; VAZQUEZ, A.I. Effect of winter management on the onset of puberty in beef heifers under grazing conditions. In: International Congress on Animal Reproduction, 15, 2004, **Anais...** Porto Seguro, ICAR, v.1, p.22, 2004.

RAMIREZ, D.V.; McCANN, S.M. Comparison of the regulation of luteinizing hormone (LH) secretion in immature and adult rats. **Endocrinology,** v.72, p.452-464, 1963.

RANDEL, R.D. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology,** v.21, p.170–185, 1984;

RAPISARDA, J.J.; BERGRAM, K.S.; STEINER, R.A.; FOSTER, D.L. Response to estradiol inhibition of tonic luteinizing hormone secretion decreases during the final stage of puberty in the Rhesus monkey. **Endocrinology,** v.112, p.1172-1179, 1983.

RAZOOK, A.G.; MERCADANTE, M.E.Z. Ganhos de produtividade com o uso de touros provados. In: SANTOS, F.A.P.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. **Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2007. p.93-114.

RICHARDS, M.W.; SPITZER, J.C.; WARNER, M.B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **Journal Animal Science,** v.62, p. 300–306, 1986.

ROBERTS, A.J.; GEARY, T.W.; GRINGS, E.E.; WATERMAN, R.C.; MACNEIL, M.D. Reproductive performance of heifers offered ad libitum or restricted access to feed for a one hundred forty-day period after weaning. **Journal of Animal Science,** v. 87, p.3043–3052, 2009.

RODRIGUES, H.D.; KINDER, J.E.; FITZPATRICK L.A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. **Biology of Reproduction,** v.66, p.603-609, 2002.

RODRIGUES, A.A.; CRUZ, G.M.; ALENCAR, M.M.; BARBOSA, R.T.; CORRÊA, L.A.; OLIVEIRA, G.P. Efeito da suplementação no peso e idade ao primeiro cio de novilhas de diferentes grupos genéticos sob pastejo rotacionado em coastcross. (compact disc). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, **Anais...** Recife, SBZ, 2002.

ROMANO, M.A.; BARNABE, V.H.; KASTELIC, J.P.; DE OLIVEIRA, C.A.; ROMANO, R.M. Follicular dynamics in heifers during pre-pubertal and pubertal period kept under two levels of dietary energy intake. **Reproduction Domestic in Animals,** v.42, p.616-622, 2007.

SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; DIAS, L.M.K.; TEIXEIRA, A.A.; CARDOSO, G.G.C.; GRANDINETTI, R.R.; OLIVEIRA, V.G.; COMBI. I.M; BARUSELLI, P.A. Evaluation of different protocols to induce cyclicity in prepubertal beef heifers. IN: International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2, 2008, **Anais…**São Paulo, ISABR, p.234, 2008.

SANTOS, J.E.P.; AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. IN: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 13, 1998, **Anais...** Atibaia, SBTE, p.19-89, 1998.

SAS Institute. SAS/STAT Software: changes and enhancements through realese 6.12. Cary, 1997.

SCHILLO, K.K.; HALL, J.B.; HILEMAN, S.M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in beef heifer. **Journal of Animal Science,** v.70, n.12, p.3994-4005, 1992.

SEMMELMANN, C.E.N.; LOBATO, J.F.P.; ROCHA, M.G. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.30, p.835-843, 2001.

SILVA, J.A. II V.; VAN MELIS, M.H.; ELER, J.P.; FERRAZ, J.B.S. Estimação de Parâmetros Genéticos para Probabilidade de Prenhez aos 14 Meses e Altura na Garupa em Bovinos da Raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.32, p.1141-1146, 2003.

SILVA, J.A.II V.; DIAS, L.T.; ALBUQUERQUE, L.G. Estudo Genético da Precocidade Sexual de Novilhas em um Rebanho Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.34, p.1568-1572, 2005.

SILVA, J.A. II V.; FORMIGONI, I.B.; ELER, J.P.; FERRAZ, J.B.S. Genetic Relationship among Stayability, Scrotal Circumference and Post-Weaning Weight in Nelore Cattle. **Livestock Science,** v.99, p.51-59, 2006.

SILVA, M.A.; PEREIRA, F.A. Crescimento e desempenho reprodutivo de animais zebu e mestiços Chianina-zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.15, nº2, p.116-123, 1986.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction,** v.39, p.308–317, 1988.

SOUZA, E.M.; MILAGRES J.C.; SILVA, M.A.; REGAZZI, A.J.; CASTRO A.C.G. Influência genética e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.24, nº6, p.926-935, 1995.

THALLMAN, R.M.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; KOCH, R.M. Germplasm evaluation in beef cattle – Cycle IV: Postweaning growth and puberty of heifers. **Journal Animal Science,** v.77, p.2651-2659, 1999.

VARGAS, C.A.; OLSON, T.A.; CHASE JR, C.C.; HAMMOND, A.C.; ELZO, M.A. Influence of Frame Size and Body Condition Store on Performance of Brahman Cattle. **Journal of Animal Science,** v.77, p.3140–3149, 1999.

VOISINET, B.D.; GRANDIN, T.; TATUM, JD.; O'CONNOR, S.F.; STRUTHERS, J.J. Feedlot cattle with calm temperaments have greater average daily gains than cattle with excitable temperaments. **Journal of Animal Science,** v.75, p.892-896, 1997.

WERRE, J.F.; BRINKS, J.S. 1986. Relationship of age at puberty with growth and subsequent productivity in beef heifers. **Proceedings of West Section of American Society of Animal Science,** v.37, p.300, 1986.

WILLARD, S.; LAY, D.; FRIEND, T.; NEUENDORFF, D.; RANDEL, R. Plasma progesterone response following ACTH administration during midgestation in the pregnant Brahman heifer. **Theriogenology,** v.63, p.1061–1069, 2005.

WILTBANK, J.N. Research needs in beef cattle reproduction. **Journal of Animal Science,** v.31, p.755-762, 1970.