

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

***VARIAÇÃO DO CICLO ESTRAL DE NOVILHAS *Bos  
taurus indicus* (NELORE) EM DIFERENTES ESTAÇÕES  
DO ANO***

**Anivaldo Olívio Corte Junior**  
Médico Veterinário

ARAÇATUBA – SP  
2009

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

***VARIAÇÃO DO CICLO ESTRAL DE NOVILHAS *Bos taurus indicus* (NELORE) EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO***

**Anivaldo Olívio Corte Junior**

**Orientador: Prof. Adj. Dr. Guilherme de Paula Nogueira**

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

ARAÇATUBA – SP  
2009

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C827v Corte Júnior, Anivaldo Olivio  
Variação do ciclo estral de novilhas *Bos taurus indicus*  
(Nelore) em diferentes estações do ano / Anivaldo Olivio  
Corte Júnior. – Araçatuba: [s.n.], 2009  
60 f. : il. ; tab + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, 2009  
Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira

1. Nelore (Zebu) 2. Estradiol 3. Hormônio luteinizante  
4. Folículo ovariano 5. Progesterona 6. Estações do ano

CDD 636.291

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**ANIVALDO OLIVIO CORTE JUNIOR** – Nascido no dia 26/06/1984 no município de Tupi Paulista-SP. Ingressou no Curso de Medicina Veterinária da UNESP - *Campus Araçatuba* no ano de 2002, tendo concluído-o no ano de 2006, obtendo o prêmio de 1º lugar entre os egressos, concedido pelo Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo (CRMV-SP). Ingressou no Curso de Pós-graduação em Ciência Animal no ano de 2007.

*Depois de algum tempo você aprende...*

*...que realmente pode suportar... que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida! Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o bem que poderíamos conquistar se não fosse o medo de tentar.*

*William Shakespeare*

*A minha família*  
 *Ao meu pai Anivaldo Olívio Corte*  
 *A minha mãe Sebastiana Merejelli Corte*  
 *A minha irmã Bruna Otávia Corte*  
 *Meu sangue... Meu amor... Minha vida...*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – *Campus* de Araçatuba e ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira, pela orientação, paciência e, acima de tudo, pelo exemplo de profissionalismo e competência. Tê-lo-ei sempre como modelo.

À Devani Mariano Pinheiro, pela realização das quantificações hormonais, pelo auxílio e instrução nas atividades laboratoriais, pelo companheirismo nesses anos de trabalho e pela amizade sincera. Levá-la-ei sempre em meu coração.

Ao grande amigo Rafael Silva Cipriano “Gordo”, pelo companheirismo, afeto e instrução. Por reafirmar, em uma época conturbada, a amizade leal e despreziosa que torna homens distintos, espiritualmente irmãos.

À amiga e companheira de mestrado Emiliana Santana de Oliveira Batista “Trócinha”, pela amizade verdadeira e por preencher minha vida com seus constantes fatos “inquietantes”.

À Larissa Bedore Zocal “Tróça”, pela amizade e por ter me ajudado voluntariamente no mangueiro inúmeras vezes.

À Profa. Dra. Daniela Bernardete Rozza “Polaca”, pela amizade verdadeira, pela alegria constante e pela “parceria” de sempre.

Aos amigos Leandro Zaine e Hení Falcão da Costa, por representarem elos resistentes que nos mantém unidos na sólida “Corrente da felicidade”.

Às colegas de mestrado Marina de Castro Ferrarezi, Marisol Cardoso Lopes, Tatiane Calanga Barbosa e Luciana Carrenho, pela agradável companhia.

Ao aluno de iniciação científica Bruno José Ferreira Navarrete “Hulk”, por ter me auxiliado durante todo o experimento, pelo companheirismo nos meses de “Tatu-breja” e pelo inexplicável restante.

Ao aluno de iniciação científica Kleber Parra “Doido”, pelo auxílio no armazenamento das amostras durante certo tempo.

À amiga Dra. Alessandra Mara Alves Ragozo, pela ajuda na identificação dos tubos para quantificação hormonal.

À Profa. Dra. Sílvia Helena Venturoli Perri, pelos esclarecimentos das dúvidas estatísticas e por colaborar com o trabalho na banca de qualificação.

Ao Prof. Paulo César Ciarlini, por colaborar com o trabalho na banca de qualificação.

À Profa. Dra. Tereza Cristina Cardoso da Silva, pela amizade e eterna orientação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – pelo fomento.

A todos que de certa forma contribuíram para a realização deste experimento, o meu sincero agradecimento.

Á Deus, por tudo isto.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	
SUMMARY.....	
CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	12
1. Introdução.....	12
2. Hipótese.....	13
3. Objetivo.....	14
3.1. Objetivo Geral.....	14
3.2. Objetivo Específico.....	14
4. Revisão de Literatura.....	14
4.1. Ciclo Estral.....	14
4.2. Endocrinologia do Ciclo Estral.....	15
4.3. Dinâmica Folicular.....	17
4.4. Sazonalidade.....	20
Referências.....	22
CAPITULO 2 – TÍTULO DO TRABALHO.....	35
RESUMO.....	35
1. Introdução.....	36
2. Material e Método.....	38
2.1. Animais.....	38
2.2. Experimento.....	38
2.3 Quantificação Hormonal.....	40
2.4. Análise Estatística.....	40
3. Resultado e Discussão.....	41
4. Conclusão.....	47
Referências.....	47
APÊNDICE.....	59
Apêndice A – Normas editoriais da revista.....	60

## ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de variância

CL – Corpo Lúteo

CV – Coeficiente de Variação

D – Dia do ciclo estral

EPM – Erro Padrão da Média

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

h – Hora

IGFs – Fatores de Crescimento semelhante à Insulina

kg – Quilograma

LH – Hormônio Luteinizante

min – Minuto

mL – Mililitro

mm – Milímetro

ng – Nano grama

n<sup>o</sup> - Número

PGF<sub>2α</sub> – Prostaglandina

p – Grau de significância

p. v. – Peso Vivo

P4 – Progesterona

µg – Micro grama

## TABELAS E FIGURAS

- Tabela 1 - Caracterização climática (média±EPM) diária da temperatura, da pluviosidade, do fotoperíodo e da variação no fotoperíodo, nas diferentes estações durante o experimento (Sul-21° 12' 32" e Oeste-50° 25' 58").....54
- Tabela 2 - Comparação das características dos ciclos estrais entre as estações – (média±EPM) do número de folículos observados em cada dia, de diferentes categorias, do diâmetro do folículo pré-ovulatório, do comprimento dos ciclos, do peso das 8 novilhas Nelore inteiras nos meses em que houve ciclos, da variação do peso nesses meses, do peso das novilhas ovariectomizadas nos meses em que houve tratamento e da variação de peso nesses meses. Comparação do número de ciclos estrais com 2 e 3 ondas foliculares, entre as estações.....55
- FIGURA 1 - (A) Concentração de progesterona plasmática média durante o ciclo estral, (B) número de folículos  $\geq 3$  mm observados em cada dia, (C) concentração de progesterona plasmática a cada três dias e (D) concentração de progesterona plasmática máxima (média±EPM) nos ciclos estrais acompanhados por estação (outono-n=11; inverno-n=8; primavera-n=9; verão-n=9) de seis novilhas Nelore, em função do fotoperíodo.....56
- FIGURA 2 - Concentração plasmática de LH em cinco novilhas Nelore ovariectomizadas, no momento e a cada 3h após a aplicação de  $17\beta$ -estradiol (2 $\mu$ g por kg de peso vivo), nas diferentes estações do ano.....57

FIGURA 3 – (A) Concentração plasmática de LH, amostras a cada quatro dias, de cinco novilhas Nelore ovariectomizadas (excluindo os períodos de tratamento com  $17\beta$ -estradiol) nas diferentes estações do ano (média $\pm$ EPM). (B) Médias da concentração plasmáticas de LH, amostras a cada quatro dias, de cinco novilhas Nelore ovariectomizadas (incluindo os períodos de tratamento com  $17\beta$ -estradiol) ao longo do ano, com o período de suplementação. (C) Concentração plasmática de LH, amostras a cada quatro dias (excluindo os picos pré-ovulatórios), de seis novilhas Nelore inteiras nas diferentes estações do ano (média $\pm$ EPM). (D) Médias da concentração plasmática basal de LH, amostras a cada quatro dias (excluindo os picos pré-ovulatórios), de seis novilhas Nelore inteiras ao longo do ano, com o período de suplementação – em função do fotoperíodo .....58

## VARIAÇÃO DO CICLO ESTRAL DE NOVILHAS *Bos taurus indicus* (NELORE) EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO

RESUMO – Seis novilhas Nelore tiveram seus ciclos estrais acompanhados durante diferentes estações do ano (outono n=11; inverno n=8; primavera n=9; verão n=9) com exames ultrassonográficos diários para contar e mensurar folículos  $\geq 3$ mm. Amostras de sangue foram colhidas a cada 12h para hormônio luteinizante (LH) e progesterona (P4), e a cada 3h do estro até a ovulação para caracterizar o pico de LH. Cinco novilhas ovariectomizadas receberam  $17\beta$ -estradiol ( $2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{p.v.}$ ) em cada estação, e amostras de sangue foram colhidas depois disso a cada 3h para quantificação de LH. A diferença percentual mensal ( $\Delta\%$ ) do peso não variou entre as estações. A concentração média de P4 no ciclo estral foi maior ( $p=0,001$ ) e o número de folículos menor ( $p=0,001$ ) durante o outono ( $2,5\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$ ;  $7,8\pm 0,1$ ) e verão ( $2,9\pm 0,3\text{ng}/\text{mL}$ ;  $6,8\pm 0,2$ ) comparado com o inverno ( $1,4\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$ ;  $9,6\pm 0,3$ ) e primavera ( $1,6\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$ ;  $9,7\pm 0,3$ ). Durante o inverno houve mais ciclos estrais com três (5 de 8) e durante o verão somente ciclos com duas ondas foliculares ( $p=0,009$ ). Como a secreção de LH não variou, apesar da variação sazonal na concentração de P4, e como houve correlação negativa entre os valores máximos de P4 e a variação percentual do fotoperíodo ( $p=0,0056$ ;  $r = -0,4465$ ), uma variação sazonal na sensibilidade das células luteínicas ao LH precisa ser avaliada. Nas novilhas ovariectomizadas, a concentração ciranual de LH sem o estímulo de estradiol foi significativa ( $p=0,0214$ ). A resposta de LH ao tratamento de estradiol foi menor no verão ( $0,8\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$  vs  $1,3\pm 0,5\text{ng}/\text{mL}$ ). Nós supomos que existe variação sazonal na sensibilidade hipotalâmica ao estradiol.

**Palavras-chave:** Estações do ano, estradiol, hormônio luteinizante, folículo ovariano, progesterona

## CHANGE OF *Bos taurus indicus* (NELORE) HEIFERS ESTROUS CYCLE DURING DIFFERENT SEASONS OF THE YEAR

SUMMARY – Six Nelore heifers had their estrous cycle followed during different seasons of the year (autumn n=11; winter n=8; spring n=9 and summer n=9) with daily ultrasonographic exams to count and measure follicles  $\geq 3$ mm. Blood was collected every 12h for luteinizing hormone (LH) and progesterone (P4), and every 3h from estrus until ovulation to characterize the LH peak. Five ovariectomized heifers were injected with  $17\beta$ -estradiol ( $2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{LW}$ ) every season and blood samples were collected thereafter at 3h intervals for LH quantification. The monthly body weight percentile difference ( $\Delta\%$ ) did not vary between seasons. Average P4 concentration for the cycle was higher ( $p=0.001$ ) and follicle number lower during autumn ( $2.5\pm 2\text{ng}/\text{ml}$ ;  $7.8\pm 1$ ) and summer ( $2.9\pm 3\text{ng}/\text{ml}$ ;  $6.8\pm 2$ ) ( $p=0.001$ ) compared to winter ( $1.4\pm 2\text{ng}/\text{ml}$ ;  $9.6\pm 3$ ) and spring ( $1.6\pm 2\text{ng}/\text{ml}$ ;  $9.7\pm 3$ ). During winter there were more estrous cycles with three follicle waves (5 out of 8) and during summer only cycles with two follicular waves ( $p=0.009$ ). As LH secretion did not vary despite seasonal variation in P4 concentration and as there was a negative correlation between higher P4 values and daily percentile variation of photoperiod ( $\Delta\%$ ,  $p=0.0056$ ;  $r= -0.4465$ ), a seasonal variation in luteal cell sensitivity to LH needs to be evaluated. In the ovariectomized Nelore heifers, the LH circannual concentration without estradiol stimulus was significant ( $p=0.0214$ ). The LH response to estradiol treatment was lower in summer ( $0.8\pm 2\text{ng}/\text{ml}$  vs  $1.3\pm 5\text{ng}/\text{ml}$ ). We hypothesize there exists seasonal variation in hypothalamic sensitivity to estradiol.

**Key-words:** Season, estradiol, luteinizing hormone, ovarian follicle, progesterone

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1 INTRODUÇÃO

A espécie bovina pode ser dividida em duas subespécies, os *Bos taurus taurus*, denominados taurinos, e os *Bos taurus indicus*, denominados zebuínos. A história da civilização está intimamente ligada à exploração da pecuária bovina. Não se sabe ao certo quando ocorreu a domesticação dos bovinos, contudo, desde então, o homem tem moldado os ancestrais selvagens dos bovinos, produzindo uma série de raças domadas, produtivas e diferenciadas por todo o mundo (AJMONE-MARSAN; GARCIA, 2008). Durante os séculos, a capacidade de reprodução dos bovinos foi privilegiada pelos pecuaristas de forma que houvesse a exploração da espécie durante o maior período possível. Com a domesticação, a seleção natural, que outrora garantiu a sobrevivência da espécie, tornou-se menos evidente e o rebanho bovino passou a ser selecionado segundo características com interesse econômico. Em relação à ciclicidade reprodutiva, hoje os bovinos são considerados poliestricos anuais, com capacidade de reprodução durante o ano inteiro.

Observando a família *Bovidae*, na qual a espécie *Bos taurus* está inclusa, encontramos inúmeras espécies selvagens que reproduzem sazonalmente. A domesticação, tanto de bovinos de corte quanto de leite, selecionou-os contra esta característica, porém, vacas de corte ainda podem ser sensíveis à fotoperiodicidade (HAFEZ; HAFEZ, 2004a), em especial as raças zebuínas por apresentarem um histórico de seleção para a criação comercial mais recente.

O rebanho bovino brasileiro possui mais de 200 milhões de cabeças, sendo o segundo maior do mundo (PRODUÇÃO, 2009). Desse montante, 80% dos animais possuem sangue zebuíno, com destaque para a raça Nelore, a principal da pecuária de corte nacional (HISTÓRIA, 2009). Isto graças à rusticidade dos zebuínos, mais adaptados que os taurinos às condições ambientais brasileiras.

Embora ocupe uma posição de destaque no cenário internacional, os índices produtivos da pecuária de corte brasileira estão muito aquém dos encontrados nos países com predominância de raças taurinas. Além do manejo, algumas características observadas em vacas zebuínas como, por exemplo, manifestação de estros curtos e em períodos noturnos (PINHEIRO et al., 1998), puberdade tardia (NOGUEIRA, 2004) e baixa fertilidade (DODSON; KAMONPATANA, 1986; LAMOTHE-ZAVALETA et al., 1991) justificam a menor produtividade comparadas às taurinas.

A literatura tem descrito variações sazonais na reprodução de bovinos que têm gerado a hipótese de que possa haver uma herança de sazonalidade reprodutiva nessa espécie. Em um experimento piloto realizado no Laboratório de Endocrinologia Animal da UNESP *Campus* Araçatuba-SP, foi constatada a variação sazonal na concentração de hormônio luteinizante (LH) plasmático em novilhas Nelore ovariectomizadas (NOGUEIRA et al., 2007), o que suscitou o interesse em desenvolver este experimento.

Conhecer melhor a interferência da sazonalidade na fisiologia dos ciclos estrais de fêmeas da raça Nelore é fundamental para otimizar a sua capacidade reprodutiva e melhorar a produção da pecuária de corte Nacional.

## **2 HIPÓTESE**

Fêmeas da raça Nelore apresentam modificações no ciclo estral em função das estações do ano, conseqüência de uma variação sazonal na concentração de LH, avaliada em novilhas Nelore inteiras. Essa variação estacional na concentração de LH ocorre em função da variação sazonal na sensibilidade hipotalâmica ao estradiol, avaliada em novilhas Nelore ovariectomizadas.

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

1. Avaliar variáveis fisiológicas relacionadas com o ciclo estral de novilhas Nelore em diferentes estações do ano.

2. Avaliar a variação na concentração de LH em resposta à administração de estradiol, em novilhas ovariectomizadas, nas diferentes estações do ano.

#### **3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

1. Acompanhar os ciclos estrais de novilhas Nelore com exames ultrassonográficos diários, avaliando a dinâmica folicular ovariana nas diferentes estações do ano, contar e mensurar os folículos com diâmetro igual ou superior a 3 mm, e colher amostras sanguíneas para quantificação de progesterona (P4) e LH.

2. Comparar a resposta da secreção de LH após administração de 17 $\beta$ -estradiol em novilhas Nelore ovariectomizadas, nas diferentes estações do ano.

### **4 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **4.1 CICLO ESTRAL**

Após atingirem a puberdade, as fêmeas da espécie bovina exibem cio periodicamente até que ocorra a gestação. A duração do ciclo estral varia de acordo com a raça, com a maturidade e até mesmo individualmente. Foi constatada a duração média do ciclo estral em raças *Bos taurus taurus* de 21  $\pm$  3,7 dias para vacas e de 20  $\pm$  2,3 dias para novilhas (ROBINSON; SHELTON,

1991). Em vacas *Bos taurus indicus* lactantes, Ruiz-Cortés e Oliveira-Angel (1999) observaram a duração média do ciclo estral com três diferentes padrões: normal ( $21 \pm 3$  dias), curto ( $10 \pm 2$  dias) e longo ( $50 \pm 4$  dias).

Em bovinos, a cópula ocorre antes da ovulação e é possível graças à ação estrogênica que causa o estro (cio). O estro é caracterizado pela receptividade sexual, quando a fêmea permite ser montada (BLOCKEY, 1980; ESSLEMONT et al., 1980), pela presença de muco vaginal claro, edema vulvar, micção freqüente e inquietação (HAFEZ; HAFEZ, 2004b). A duração do estro, assim como o ciclo estral, varia de acordo com a raça. Genericamente o estro de zebuínos é mais curto e mais discreto que de taurinos, e o intervalo entre o estro e a ovulação é maior. Em *Bos taurus taurus* foi verificado que o estro dura em média 18 h e a ovulação ocorre 10-12 h após o seu final (HANSEL; ECHTERNKAMP, 1972; HUNTER; WILMUT, 1984; WISHART, 1972). Já em *Bos taurus indicus* foi constatado estro com média de 11 h, com variação de 1,3 a 20 h (GALINA; ARTHUR, 1990), e o intervalo entre o início do estro e a ovulação foi de 26,7 h, com a maioria dos estros ocorridos no período noturno, e um grande número com início e fim nesse período (PINHEIRO et al., 1998).

#### 4.2 ENDOCRINOLOGIA DO CICLO ESTRAL

Dentre os controladores da reprodução, o principal é o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. Dos hormônios hipotalâmicos, o GnRH controla a liberação dos hormônios hipofisários LH e FSH (gonadotrofinas), que agem na gônada, estimulando a produção de, por exemplo, P4, estradiol ou inibina, que por sua vez, agindo no hipotálamo e hipófise, retro-alimentam este eixo. O GnRH é sintetizado por neurônios hipotalâmicos que o liberam sob a forma de pulsos. Através da circulação porta-hipotalâmico-hipofisário atinge a adenoipófise, onde estimula a secreção de LH e FSH, os quais estimulam a produção de esteróides gonadais (estradiol e P4) e o crescimento folicular. Durante a maior parte do ciclo estral, ambos os hormônios (estradiol e P4) inibem a secreção de

gonadotrofinas por meio de retro-alimentação negativa sobre o hipotálamo (CUNNINGHAM, 2004; GOODMAN; KARSCH, 1980; PRICE; WEBB, 1988). O LH é liberado sob a forma de pulsos que variam em frequência e amplitude refletindo a secreção de GnRH (HAUGER et al., 1977; RAHE et al., 1980; WRIGHT; MALMO, 1992).

Após a ovulação, as células da granulosa e da teca se diferenciam (luteinização) dando origem ao CL, principal produtor de P4. Com a maturação do CL, há um aumento progressivo da concentração de P4, atingindo valores máximos entre o quinto e o 11<sup>o</sup> dia do ciclo estral (MIHM et al., 1996). No início da formação do CL, quando a concentração de P4 esta baixa, até por volta de três a quatro dias após a ovulação, há um pulso de LH a cada uma ou duas horas. Conforme o CL atinge sua maturidade, o aumento da concentração de P4 causa a redução da frequência de secreção de LH, por feedback negativo sobre o hipotálamo, que então é secretado com frequência de um pulso a cada três ou quatro horas (MIHM et al., 2002; MIHM et al., 1996). Após 15-16 dias se não houve fecundação e a presença de um embrião, o útero secreta  $PGF_{2\alpha}$  que causa a luteólise. Com a luteólise, a concentração sérica de P4 diminui a níveis inferiores a 1 ng/mL, o que permite um aumento na frequência dos pulsos de LH (GOODMAN; KARSCH, 1980; KARSCH, 1987).

Durante o ciclo estral o crescimento folicular exhibe um padrão de ondas. A emergência de cada onda de crescimento folicular é causada pelo aumento na concentração sérica de FSH, provocando o recrutamento e o crescimento folicular (ADAMS et al., 2008; ADAMS et al., 1992a; ADAMS et al., 1992b; GINTHER et al., 1999; GINTHER et al., 1997; GINTHER et al., 1996; GONG et al., 1995; GONG et al., 1996; HAMILTON et al., 1992; MIHM; AUSTIN, 2002; MIHM et al., 2002; SUNDERLAND et al., 1994). Em uma onda, os folículos crescem de forma semelhante até o momento da divergência ou desvio, no qual inicia a diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos (GINTHER et al., 1996), o folículo que continua seu crescimento, agora chamado de dominante, torna-se dependente de LH (GINTHER et al., 2001a) e suprime o crescimento dos restantes. A secreção de FSH é inibida pela

folistatina, inibina, produzidas pelos folículos em crescimento, e, principalmente, pelo estradiol produzido pelo folículo dominante, que agem no hipotálamo (ADAMS et al., 2008; MIHM et al., 2002). Com a redução do FSH há somente o crescimento do folículo dominante, impedindo o crescimento dos folículos subordinados, dependentes de FSH, e o desenvolvimento de uma nova onda folicular (ADAMS et al., 2008; KASTELIC et al., 1990). O folículo dominante continua a crescer, aumentando a secreção de 17  $\beta$ -estradiol e inibina, que mantêm a concentração de FSH entre 0,1 a 0,4 ng/mL (MIHM et al., 2002), nessas condições os folículos subordinados passam a regredir (ADAMS et al., 2008; FINDLAY, 1994; GINTHER et al., 1999; GINTHER et al., 1997; MIHM et al., 2002; MIHM; AUSTIN, 2002).

Após a luteólise, devido ao aumento na frequência de pulsos de LH, em decorrência da redução da concentração de P4, o folículo dominante passa a crescer rapidamente e a secretar quantidades maiores de 17  $\beta$ -estradiol (FORTUNE et al., 1988). O estradiol atua no sistema nervoso central causando a manifestação do estro. Ele estimula a síntese de receptores para GnRH na hipófise (SCHOENEMANN et al., 1985) tornando-a mais sensível (KESNER et al., 1981) ao mesmo tempo que aumenta a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH (HANSEL; CONVEY, 1983). Altas concentrações de estradiol, sob baixas concentrações de P4 (< 1,0 ng/mL), provocam o pico pré-ovulatório de LH e a conseqüente ovulação (CUPP et al., 1995; SHORT et al., 1979; STUMPF et al., 1989; SUNDERLAND et al., 1994). A ovulação é causada pela ruptura da parede folicular provocada pelo pico pré-ovulatório de LH que ocorre junto a uma onda de FSH (CAVALIERI et al., 1997; KANEKO et al., 1991; MIHM et al., 2002).

### **4.3 DINÂMICA FOLICULAR**

O ciclo estral de bovinos exhibe um padrão de crescimento folicular em ondas, tanto em taurinos (GINTHER et al., 1989; MURPHY, et al., 1990; SÁVIO

et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988) como zebuínos (FIGUEIREDO et al., 1997; GAMBINI et al., 1998; RHODES et al., 1995), que pode variar de uma a quatro ondas. Em *Bos taurus taurus* foi relatada tanto a predominância de ciclos estrais com duas (GINTHER et al., 1989; PIERSON; GINTHER, 1988), quanto com três (SÁVIO et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988) ondas foliculares. Vacas da raça Nelore foram caracterizadas com predominância de ciclos com duas (BÓ et al., 2003; FIGUEIREDO et al., 1997) e três ondas (BORGES et al., 2004), enquanto novilhas com três (BÓ et al., 2003; FIGUEIREDO et al., 1997) ondas foliculares. Mais de 95% dos ciclos estrais em bovinos apresentam duas ou três ondas foliculares (ADAMS et al., 2008), podendo ocorrer variação em ciclos consecutivos (FIGUEIREDO et al., 1997; RHODES et al., 1995), contudo, a maioria apresenta o mesmo padrão de ondas em ciclos consecutivos (ADAMS et al., 2008).

A duração da fase luteal é quem determina o número de ondas e, por conseguinte, a duração do ciclo estral, quanto maior a duração do CL, maior o número de ondas foliculares, conseqüentemente, maior o comprimento do ciclo estral (FORTUNE, 1994), como foi observado comparando o comprimento dos ciclos estrais de animais com duas e três ondas foliculares (ADAMS et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 1997; GINTHER et al., 1989). Recentemente, foi identificada correlação para o número de ondas em um ciclo estral com a duração da dominância folicular da primeira onda. Período de dominância mais longo e início da regressão mais tardio foram observados em ciclos com padrão de duas ondas comparados a três ondas foliculares, associando assim, a dominância da primeira onda com o posterior atraso em atingir o diâmetro máximo pelo folículo dominante da segunda onda, bem como com o prematuro início da luteólise. Dessa forma, fatores que influenciam o desenvolvimento do folículo dominante na primeira onda podem ser responsáveis pela regulação do número de ondas (ADAMS et al., 2008). O aumento na proporção de ciclos com três ondas foi associado também ao número de parições (BÓ et al., 2003), à baixa qualidade da dieta e ao estresse térmico (ADAMS et al., 2008; BÓ et al., 2003). A sazonalidade parece não interferir nessas características tanto em

Nelores (BÓ et al., 2003; BORGES et al., 2004; FIGUEIREDO et al., 1997) quanto em Brahmans (ZEITOUN et al., 1996). Já em novilhas Guzerá (*Bos taurus indicus*) foi observada predominância de ciclos estrais com uma onda no verão e duas no inverno (GAMA FILHO, et al., 2007).

A seleção folicular é regulada sistemicamente pelo FSH e LH (BEG et al., 2002) e localmente por fatores que modulam a ação das gonadotrofinas (GINTHER et al., 2001b), além de outros fatores que agem possivelmente independentes das gonadotrofinas (ARMSTRONG; WEEB, 1997).

Cada onda folicular pode ser dividida em três fases: recrutamento, seleção e dominância (SIROIS; FORTUNE, 1990). Os folículos selecionados em uma onda crescem de forma semelhante até o momento da divergência ou desvio folicular, em que o maior folículo (dominante) passa a crescer com uma taxa maior que o segundo maior folículo. Desse momento em diante os folículos restantes (subordinados) passam a crescer com uma taxa menor e entram em atresia, já o folículo dominante continua seu desenvolvimento (GINTHER et al., 1996). A partir desse momento, o folículo dominante induz a diminuição da concentração plasmática de FSH, o que determina o desvio folicular (GINTHER et al., 1999). Durante a fase de dominância folicular, as concentrações de FSH são mantidas em níveis basais até o folículo dominante perder sua dominância, o que resulta em um novo aumento nos níveis de FSH e subsequente emergência de uma nova onda folicular (BODENSTEINER et al., 1996).

A formação do CL altera a dinâmica folicular. Durante a fase de crescimento folicular e início do platô, altas doses de P4 causam a queda na secreção de LH induzindo o folículo dominante, LH-dependente, à atresia (ADAMS et al., 2008). A P4, em níveis luteínicos, não está ligada à redução de FSH, por conseguinte, não se relaciona com a atresia dos folículos subordinados (ADAMS et al., 1992).

#### 4.4 SAZONALIDADE

Diversas alterações nas características reprodutivas de bovinos são frequentemente descritas na literatura e muitas vezes correlacionadas com variações no ambiente. As variáveis ambientais que interferem na reprodução de bovinos são: o fotoperíodo, a temperatura e a pluviosidade, por determinar a oferta de pastagem, representando na verdade um fator nutricional. Há relatos na literatura de diversas alterações na reprodução de bovinos, comparando diferentes épocas do ano em diferentes latitudes. Embora frequentes, essas características sazonais são relatadas de forma divergente, não sendo possível estabelecer um conceito sobre quais e qual a intensidade da interferência sazonal na reprodução destes animais. Conhecer de que forma o meio ambiente interfere na reprodução é de fundamental importância para a pecuária, se descartado o fator nutricional, passível de ser controlado.

Em vacas leiteiras, principalmente de alta produção, é largamente conhecida e estudada a baixa fertilidade nos meses quentes do ano. Embora haja diferentes resultados quanto às alterações endócrinas que causam a baixa fertilidade relacionada às altas temperaturas ambientais, há um consenso da maioria dos autores em atribuir essa queda da fertilidade à redução na ingestão de alimento, ocasionada pelo estresse térmico, como descreve uma revisão sobre o assunto (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003).

Relativo à puberdade, foi observado que novilhas criadas sob longo fotoperíodo entraram na puberdade mais cedo que novilhas criadas sob ambiente de curto fotoperíodo (RIUS et al., 2005; SCHILLO et al., 1983).

Variações no comportamento estral também foram identificadas em vacas de corte. Comparando as estações, vacas foram montadas mais vezes no inverno do que na primavera e verão, e o intervalo entre montas foi maior no verão comparado ao inverno e a primavera. Já a ovulação após o início do estro, não foi influenciada pela estação (WHITE et al., 2002).

A função endócrina e a dinâmica folicular foram alteradas pela estação climática e pelo stress térmico (WILSON et al., 1998; WOLFENSON et al., 1995; 1997).

Resultados divergentes relatam a influência de altas temperaturas ambientais sobre o crescimento folicular. Badinga et al. (1993) observaram que temperatura elevada diminuiu o tamanho e o fluido do folículo dominante no oitavo dia do ciclo estral. Foi relatado que a estação influenciou o tamanho do folículo dominante da primeira onda e do folículo pré-ovulatório (BADINGA et al., 1994; MCNATTY et al., 1984). Já outros estudos concluíram que nem o estresse térmico (TROUT et al., 1998; WOLFENSON et al., 1995) nem a estação (WOLFENSON et al., 1997) influenciaram o tamanho do folículo dominante. Resultados divergentes, quanto aos efeitos do ambiente sobre o crescimento folicular, podem ser devidos a diferenças na raça do animal, na temperatura ambiental, no tempo de exposição e até mesmo na nutrição no período.

Quanto ao perfil endócrino da reprodução de bovinos ao longo das estações do ano, a literatura apresenta resultados conflitantes. Em relação à concentração P4, em *Bos taurus indicus* foi descrito ausência de efeito sazonal na concentração sérica (GAMA FILHO et al., 2007), maiores concentrações em fotoperíodo decrescente, comparados à fotoperíodo crescente (LAMOTHE-ZAVALETA et al., 1991; ZEITOUN et al., 1996) e até mesmo o inverso (BORGES et al., 2003). Também o CL de zebuínos apresentou maior área e volume no verão comparado ao inverno (BORGES et al., 2003). No cultivo de células luteínicas foi observada variação sazonal da produção de P4 em resposta ao LH, com maior capacidade no verão em relação ao inverno (RANDEL, 1984; RHODES et al., 1982). Uma provável variação na funcionalidade do CL de bovinos ao longo do ano deve ser considerada.

Em relação à concentração de LH, a literatura também apresenta resultados divergentes quanto ao padrão de secreção nas diferentes estações do ano. Na raça Brahman (*Bos taurus indicus*), foi relatada falta de influência sazonal na concentração plasmática de LH em vacas inteiras, e acentuada

diminuição em ovariectomizadas no verão (KINDER et al., 1997). Em vacas *Bos taurus taurus* ovariectomizadas, há relatos de maior concentração e maior amplitude de pulsos de LH, em resposta ao estradiol, no equinócio de primavera, comparado a outras épocas do ano (DAY et al., 1986; STUMPF et al., 1988). Em novilhas Holandesas ovariectomizadas foi constatado variação sazonal na concentração de LH e na sua resposta à indução com estradiol, com maiores concentrações no inverno que no verão (CRITSER et al., 1983). Em *Bos taurus indicus* inteiras foram encontrados níveis de LH maiores e maior ocorrência de pico pré-ovulatória na primavera e verão, comparados com o inverno (RANDEL, 1984). Em touros inteiros e gonadectomizados também foi observada variação sazonal na concentração de LH sérico (STUMPF et al., 1993). Uma possível causa da variação sazonal na concentração de LH sérico foi a provável mudança da sensibilidade hipotalâmica ao estradiol.

Animais com sazonalidade reprodutiva usam o fotoperíodo como uma referência, pelo qual percebem momentos mais propícios à atividade reprodutiva e alteram a secreção GnRH e subseqüentemente a liberação de LH e FSH pela hipófise. O mecanismo pelo qual este estímulo físico altera a reprodução envolve um complexo sistema bioquímico e endócrino cerebral que permanece ainda pouco conhecido. Recentes pesquisas relatam que, além da conhecida melatonina, outros hormônios como os tireoidianos (NAKAO et al., 2008) também apresentam importante papel no controle da sazonalidade reprodutiva de mamíferos.

Neste trabalho, foi avaliada, em novilhas Nelore inteiras, a variação sazonal do ciclo estral, analisando a dinâmica folicular e a concentração plasmática de P4 e LH, e, em ovariectomizadas, a variação sazonal da secreção de LH após a administração de estradiol.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P.; JAISWAL, R.; SINGH, J.; MALHI, P. Progress in the ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 1, p. 72-80, 2008.

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 95, n. 2, p. 627-640, 1992a.

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; KASTELIC, J. P.; KO, J. C. H. Association between surges of follicle stimulating and the emergence of follicular waves in heifers. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 94, n. 1, p. 177-188, 1992b.

AJMONE-MARSAN, P.; GARCIA, J. F. Origem e evolução do bovinos domésticos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, supl. 2, p. 241-256, 2008.

ARMSTRONG, D. G.; WEEB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. **Reviews of Reproductions**, v. 2, n. 3, p. 139-46, 1997.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; DIAZ, T.; DROST, M.; WOLFENSON, D. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v. 39, n. 4, p. 797-810, 1993.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J.; MORRIS, G.; ENTWISTLE, K.; WOLFENSON, D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17 $\beta$ , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v. 42, n. 8, p. 1263–1274, 1994.

BEG, M. A.; BERGFELT, D.R.; KOT, K.; GINTHER, O.J. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. **Biology of Reproduction**, v. 66, n. 1, p. 120-126, 2002.

BLOKEY, M. A. **Sheep and cattle mating behaviour**. Armidale: Review Rural Science, 1980. v. 4, p.53-62.

BO, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 307-326, 2003.

BODESTEINER, K. J.; KOT K.; WILTBANK M. C.; GINTHER O. J. Synchronization of emergence of follicular wave in cattle. **Theriogenology**, v. 45, n. 6, p. 115-128, 1996.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; ROCHA JUNIOR, V. R.; RUAS, J. R. M.; GIOSO, M. M.; FONSECA, J. F.; CARVALHO, G. R.; MALFFILI, V. V. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 346-354, 2004.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; ROCHA JUNIOR, V. R. CARVALHO, G. R. Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas Gir e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, p. 276-283, 2003.

CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; ENTWISTLE, K.W.; FITZPATRICK, L.A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, n. 4, p. 801-14, 1997.

CRITZER, J. K.; MILLER, K. F.; GUNSETT, F. C.; GINTHER, O. J. Seasonal LH profile in ovariectomized cattle. **Theriogenology**, v. 19, n. 2, p. 181-191, 1983.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 387-390.

CUPP, A. S.; STUMPF, T.T.; KOJIMA, F.N.; WERTH, L.A.; WOLFE, M.W.; ROBERSON, M.S.; KITTOK, R. J.; KINDER, J.E. Secretion of gonadotrophins change during the luteal phase of the bovine oestrus cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17  $\beta$  estradiol. **Animal Reproduction Science**, v. 37, n. 2, p. 109-119, 1995.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; PENNEL, P. L.; ZALESKY, D.D.; CLUTTER, A. C.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Influence of season and estradiol on secretion of luteinizing hormone in ovariectomized cows. **Biology of Reproduction**, v. 35, n. 3, p. 549-553, 1986.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. **Theriogenology**, v. 60, n. 6, p. 1139-1151, 2003.

DODSON, H.; KAMONPATANA, M. A review of female cattle reproduction with special reference to a comparison between buffaloes, cows and Zebu. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 77, n. 1, p. 1-36, 1986.

ESSLEMONT, R. J.; GLENCROSS, R. G.; BRYANT, M. J.; POPE, G. S. A quantitative study of pre-ovulatory behavior in cattle (British Friesan heifers). **Applied Animal Ethology**, v. 6, n. 1, p. 1-17, 1980.

FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in nelore Breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, n. 1, p. 1489-1505, 1997.

FINDLAY, J. K. Peripheral and local regulators of folliculogenesis. **Reproduction, Fertility Development**, v. 6, n. 2, p. 127-39, 1994.

FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, n. 2, p. 225-232, 1994.

FORTUNE J. E.; SIROIS J.; QUIRK, S. M. The growth and differentiation of ovarian follicular during the bovine estrous cycle. **Theriogenology**, v. 29, n. 1, p. 95-109, 1988.

GALINA, C. S.; ARTHUR, G. H. Review on cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrus cycles. **Animal Breeding Abstract**, v. 58, n. 8, p. 697-707, 1990.

GAMA FILHO, R. V.; FONSECA, F. A.; UENO, V. G.; FONTES, R. S.; QUIRINO, C. R.; RAMOS J. L. G.; Sazonalidade na dinâmica folicular ovariana e produção embrionária em novilhas da raça Guzará, **Brazilian Journal of Veterinarian Reserch Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 422-427, 2007.

GAMBINI, A. L. G.; MOREIRA, M. B. P.; CASTILHO, C.; BARROS, C. M. Dinâmica folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça gir. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, n. 4, p. 201-210, 1998.

GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; DONADEU, F. X.; KOT, K. Follicle selection in monovulvar species. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 3, p. 638-647, 2001b.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: Role of luteinizing hormone. **Biology of reproduction**, v. 64, n. 1, p. 197-205, 2001a.

GINTHER, O.J; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v. 52, n. 6, p. 1079-1093, 1999.

GINTHER, O. J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 87, n. 1, p. 223-230, 1989.

GINTHER, O.J; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicle during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 48, n. 1, p. 75-87, 1997.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 6, p. 1187-1194, 1996.

GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A.; PETERS, A. R.; WEBB, R. Effects of chronic treatment with a potent gonadotropin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 105, n. 2, p. 263-270, 1995.

GONG, J. G.; CAMPBELL, B. K.; BRAMLEY, T. A.; GUTERREZ, C. G.; PETERS, A. R.; WEBB, R. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 1, p. 68-74, 1996.

GOODMAN, R.L.; KARSCH, F.J. Pulsatile secretion luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, v. 107, n. 5, p. 1286-1290, 1980.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. p. 160a.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. p. 295b.

HAMILTON, S.A.; XU, Z.Z.; KIEBORZ, K.R.; YONGQUIST, R.S.; GARVERICK, H.A. Relationship between ovarian follicular dynamics and follicle-stimulating hormone levels during the bovine estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 70, suppl. 1, p. 261-323, 1992.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrus cycle. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. 2, p. 404-423, 1983.

HANSEL, W.; ECHTERNKAMP, S. E. Control of ovarian functions in domestic animals. **American Zoologist**, v. 12, n. 2, p. 225-243, 1972.

HAUGER, R. L.; KARSCH, F. J.; FOSTER, D. L. A new concept for the control of estrus cycle in the ewe on the temporal relationship between luteinizing hormone estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretions. **Endocrinology**, v. 101, n. 3, p. 807-817, 1977.

HISTÓRIA do zebuino no Brasil. ABCZ. Disponível em: <<http://www.abcz.org.br/site/abcz/historico.php>>. Acesso em: 10 fev. 2009.

HUNTER, R.H.F; WILMUT, I. Sperm transport in the cow: peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. **Reproduction Nutrition Development**, v. 24, n. 5A, p. 597-608, 1984.

LAMOTHE-ZAVALITA, C.; FREDRIKSSON, G.; MADEJ, A. Reproductive performance of zebu cattle in Mexico 2. Seasonal influence on the levels of progesterone, estradiol-17 $\beta$ , cortisol and LH during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 36, n. 6, p. 897-912, 1991.

KANEKO, H.; TERADA, T.; TAYA, K.; WATWABE, G.; SASAMOTO, S.; HASEGAWA, Y.; IGARASHI, M. Ovarian follicular dynamics and concentrations of estradiol-17  $\beta$ , progesterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. **Reproduction Fertility Development**, v. 3, n. 5, p. 529-535, 1991.

KARSCH, F. J. Central actions of ovarian steroids in feedback regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. **Annual Review of Physiology**, v. 49, p. 365-382, 1987.

KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 23, n. 3, p. 169-180, 1990.

KESNER, J. S.; CONVEY, E. M.; ANDEERSOM, C. R. Evidence that estradiol induced the preovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. **Endocrinology**, v. 108, n. 5, p. 1386-1391, 1981.

KINDER, J. E.; WHYTE, T. R.; CREED, A.; ASPDEN, W. J.; D'OCCHIO, M. J. Seasonal fluctuations in plasma concentrations of luteinizing hormone and progesterone in Brahman (*Bos indicus*) and Hereford-Shorthorn (*Bos taurus*) cows grazing pastures at two stocking rates in a subtropical environment. **Animal Reproduction Science**, v. 49, n. 2, p. 101-111, 1997.

MCNATTY, K. P.; HUDSON, N.; GIBB, M.; HENDERSON, K. M.; LUN, S.; HEATH, D.; MONTGOMERY, G. W. Seasonal differences in ovarian activity in cows. **Journal of Endocrinology**, v. 102, n. 2, p. 189–198, 1984.

MIHM, M.; AUSTIN, E. J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, n. 1, p.155–166, 2002.

MIHM, M.; DISKIN, M. G.; ROCHE, J. F. Regulation of follicle wave growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 31, n. 3, p.531–538, 1996.

MIHM, M.; CROWE, M. A.; KNIGHT, P. G.; AUSTIN, R. J. Follicle wave growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n. 4, p.191–200, 2002.

MURPHY, M. G.; BOLAND, M. P.; ROCHE J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 90, n. 2, p. 523-533, 1990.

NAKAO, N.; ONO, H.; YOSHIMURA, T. Thyroid hormones and seasonal reproductive neuroendocrine interactions. **Reproduction**, v. 136, n. 1, p. 1-8, 2008.

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

NOGUEIRA, G. P.; OLIVEIRA, D. J. C.; CIPRIANO, R. S. Variação sazonal da secreção de LH em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 3, p. 1018, 2007.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; DO VALLE, E. R.; ENCARNANÇA, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus

induced with prostaglandin  $F_{2\alpha}$  norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, n. 3, p. 667-681, 1998.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 29, n. 1, p. 21-37, 1988.

PRICE, C. A.; WEBB, R. Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v. 122, n. 5, p. 222-231, 1998.

PRODUÇÃO pecuária municipal 2006. IBGE. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=1053](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1053)>. Acesso em: 10 fev. 2009.

RAHE, C. H.; OWENS, R. E.; FLEEGER, J. L.; NEWTON, H. J.; HARMS, P. G. Patterns of luteinizing hormone in the cycling cow dependence upon period of the cycle. **Endocrinology**, v. 107, n. 2, p. 498-503, 1980.

RANDEL, R. D. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v. 21, n. 1, p. 170-185, 1984.

RHODES, F. M.; DE´ATH, G.; ENTWISTLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 38, n. 4, p. 265-277, 1995.

RHODES, R. C.; RANDEL, R. D.; LONG, C. R. Corpus luteum in the bovine: in vivo in vitro evidence for both a seasonal and breedtype effect. **Journal of Animal Science**, v. 55, n. 1, p. 159-167, 1982.

RIUS, A. G.; CONNOR, E. E.; CAPUCO, A. V.; KENDALL, P. E.; AUCHTUNG-MONTGOMERY, T. L.; HAHN, G. E. Long-Day Photoperiod that Enhances

Puberty Does Not Limit Body Growth in Holstein Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 12, p. 4356-4365, 2005.

ROBINSON, T. J.; SHELTON, J. N. Reproduction in cattle In: CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 1991, p.445-470.

RUIZ-CORTÉS, Z. T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v. 54, n. 4, p. 211-220, 1999.

SAVIO, J. D.; KEENAN, L.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 83, n. 2, p. 663-671, 1988.

SCHILLO, K. K.; HANSEN, P. J.; KAMWANJA, L. A.; DIERSCHKE, D. J.; HAUSER, E. R. Influence of season on sexual development in heifers: age at puberty as related to growth and serum concentrations of gonadotropins, prolactin, thyroxine and progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 28, n. 2, p. 329-341, 1983.

SCHOENEMANN, H. M.; HUMPHREY, W. D.; CROWDER, M. E.; NETT, T. M.; REEVES, J. J. Pituitary luteinizing hormone releasing receptors in ovariectomized cows after challenge with ovarian steroids. **Biology of Reproduction**, v. 32, n. 3, p. 574-583, 1985.

SHORT, R. E.; CARR, J. B.; GRAVES, N. W.; MILMINE, W. L.; BELLOWS, R. A. Effect of clitoral stimulation and length of time and pregnancy rates in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 49, n. 3, p. 643-650, 1979.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Lengthening of the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology**, v. 127, n. 2, p. 915-925, 1990.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycles in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, n. 2, p. 308-317, 1988.

STUMPF, T. T.; DAY, M. L.; WOLFE, M. W.; CLUTTER, A. C.; STOTTS, J. A.; WOLFE, P. L.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Effects of estradiol on secretion of luteinizing hormone during the follicular phase of the bovine estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v. 41, n. 1, p. 91, 1989.

STUMPF, T. T.; DAY, M. L.; WOLFE, P. L.; WOLFE, M. W.; CLUTTER, A. C.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Feedback of  $17\beta$ -estradiol on secretion of luteinizing hormone during different seasons of the year. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 2, p. 447-451, 1988.

STUMPF, T. T.; WOLFE, M. W.; ROBERSON, M. S.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Season of the year influences concentration and pattern of gonadotropins and testosterone in circulation of the bovine male. **Biology of Reproduction**, v. 49, n. 5, p. 1089-1095, 1993.

SUNDERLAND, S. J.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F.; IRELAND, J. J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrus cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, n. 3, p. 547-555, 1994.

TROUT, J. P.; MCDOWELL, L. R.; HANSEN, P. J. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1244–1250, 1998.

WHITE, F. J.; WETTEMANN, R. P.; LOOPER, M. L.; PRADO, T. M.; MORGAN G.L. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beefs cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 12, p. 3053-3059, 2002.

WILSON, S. J.; KIRBY, C. J.; KOENIGSFELD, A. T.; KEISLER, D. H.; LUCY, M. C. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 8, p. 2132–2138, 1998.

WISHART, D. F. Observations on the estrous cycle of the Friesian Heifers. **Veterinary Record**, v. 90, n. 21, p. 595-597, 1972.

WOLFENSON, D.; LEW, B. J.; THATCHER, W. W.; GRABER, Y.; MEIDAN, R. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. **Animal Reproduction Science**, v. 47, n. 1-2, p. 9–19, 1997.

WOLFENSON, D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L.; SAVIO, J. D.; MEIDAN, R.; LEW, B. J.; BRAW-TAL, R.; BERMAN, A. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. **Biology of Reproduction**, v.52, n. 5, p. 1106–1113, 1995.

WRIGHT, P. J.; MALMO, J. Pharmacologic manipulation of fertility. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 8, n. 1, p. 57-89, 1992.

ZEITOUN, M. M.; RODRIGUEZ, H. F.; RANDEL, R. D. Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. **Theriogenology**, v. 45, n. 8, p. 1577-1581, 1996.

## **CAPÍTULO 2 - VARIAÇÃO DO CICLO ESTRAL DE NOVILHAS *Bos taurus indicus* (NELORE) EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO**

### **Variação do Ciclo Estral de Novilhas *Bos taurus indicus* (Nelore) em Diferentes Estações do Ano**

RESUMO – Seis novilhas Nelore tiveram seus ciclos estrais acompanhados durante diferentes estações do ano (outono n=11; inverno n=8; primavera n=9; verão n=9) com exames ultrassonográficos diários para contar e mensurar folículos  $\geq 3\text{mm}$ . Amostras de sangue foram colhidas a cada 12h para hormônio luteinizante (LH) e progesterona (P4), e a cada 3h do estro até a ovulação para caracterizar o pico de LH. Cinco novilhas ovariectomizadas receberam  $17\beta$ -estradiol ( $2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{p.v.}$ ) em cada estação, e amostras de sangue foram colhidas depois disso a cada 3h para quantificação de LH. A diferença percentual mensal ( $\Delta\%$ ) do peso não variou entre as estações. A concentração média de P4 no ciclo estral foi maior ( $p=0,001$ ) e o número de folículos menor ( $p=0,001$ ) durante o outono ( $2,5\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$ ;  $7,8\pm 0,1$ ) e verão ( $2,9\pm 0,3\text{ng}/\text{mL}$ ;  $6,8\pm 0,2$ ) comparado com o inverno ( $1,4\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$ ;  $9,6\pm 0,3$ ) e primavera ( $1,6\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$ ;  $9,7\pm 0,3$ ). Durante o inverno houve mais ciclos estrais com três (5 de 8) e durante o verão somente ciclos com duas ondas foliculares ( $p=0,009$ ). Como a secreção de LH não variou, apesar da variação sazonal na concentração de P4, e como houve correlação negativa entre os valores máximos de P4 e a variação percentual do fotoperíodo ( $p=0,0056$ ;  $r = -0,4465$ ), uma variação sazonal na sensibilidade das células luteínicas ao LH precisa ser avaliada. Nas novilhas ovariectomizadas, a concentração circanual de LH sem o estímulo de estradiol foi significativa ( $p=0,0214$ ). A resposta de LH ao tratamento de estradiol foi menor no verão ( $0,8\pm 0,2\text{ng}/\text{mL}$  vs  $1,3\pm 0,5\text{ng}/\text{mL}$ ). Nós supomos que existe variação sazonal na sensibilidade hipotalâmica ao estradiol.

**Palavras-chave:** Estações do ano, estradiol, hormônio luteinizante, folículo ovariano, progesterona

## 1 Introdução

Observando a família *Bovidae* encontramos diversas espécies que reproduzem estacionalmente, como ovinos, caprinos e bubalinos. Embora a espécie *Bos taurus* seja considerada poliestrica anual, algumas características reprodutivas podem variar ao longo do ano, como maior freqüência de monta em bovinos de corte no inverno comparado com o verão<sup>1</sup>. De forma geral, a literatura apresenta resultados conflitantes quanto à sazonalidade reprodutiva de bovinos. Em *Bos taurus indicus* foi descrita tanto a ausência de efeito sazonal na concentração sérica de P4<sup>2</sup>, quanto maiores concentrações em fotoperíodo decrescente, comparados à fotoperíodo crescente<sup>3,4</sup> e até mesmo o inverso<sup>5</sup>. Também o CL de *Bos taurus indicus* foi descrito com maior área e volume no verão comparado ao inverno<sup>5</sup>, e maior capacidade de produção de P4 em resposta ao LH<sup>6,7</sup>. Em relação ao LH, na raça Brahman (*Bos taurus indicus*), foi relatada ausência de influência sazonal na concentração plasmática de LH em vacas inteiras, e acentuada diminuição em ovariectomizadas no verão<sup>8</sup>. Em vacas *Bos taurus taurus* ovariectomizadas, há relatos de maior concentração e maior amplitude de pulsos de LH, em resposta ao estradiol, no equinócio de primavera, comparado a outras épocas do ano<sup>9,10</sup>. Em vacas *Bos taurus indicus* inteiras foram encontrados níveis de LH maiores e maior ocorrência de onda pré-ovulatória na primavera e verão, comparados com o inverno<sup>6</sup>.

O inverno inicia no solstício de inverno, a partir do qual o fotoperíodo aumenta gradativamente (crescente) até o solstício de verão, quando o fotoperíodo passa a regredir (decrescente). Animais com sazonalidade reprodutiva utilizam o fotoperíodo como uma referência, pelo qual percebem momentos mais propícios à atividade reprodutiva e alteram a secreção de

GnRH no hipotálamo e subseqüentemente a liberação de LH e FSH pela hipófise, controlando a função gonadal.

No ciclo estral de bovinos, período entre duas ovulações, o crescimento folicular exibe um padrão de ondas que ocorre periodicamente, tanto nas raças taurinas (*Bos taurus taurus*)<sup>11</sup> quanto nas zebuínas (*Bos taurus indicus*)<sup>12,13</sup>. Os folículos recrutados em uma onda crescem em resposta à estimulação do FSH, aquele que inicia seu crescimento primeiro torna-se o dominante<sup>14</sup>. Cada onda folicular é composta por três fases distintas: fase de recrutamento, seleção e dominância<sup>15</sup>. Em uma onda, os folículos crescem de forma semelhante até momento da divergência ou desvio, no qual se inicia a diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos<sup>16</sup>, o folículo que continua seu crescimento, agora chamado de dominante, torna-se dependente de LH<sup>17</sup> e suprime o crescimento dos restantes, através da supressão do FSH. A secreção de FSH é inibida pela folistatina, inibina, produzidas pelos folículos em crescimento, e, principalmente, pelo estradiol produzido pelo folículo dominante<sup>14,18</sup>, que age no hipotálamo. Para sensibilidade ao estradiol, o hipotálamo depende de uma exposição prévia de P4, como foi observado na secreção em pico de LH<sup>19</sup>. Tratamentos com P4 falharam em suprimir a onda de FSH em bovinos<sup>20,21</sup>, contudo, demonstraram importante papel na supressão de LH<sup>17,20</sup>.

Em um experimento piloto realizado pelo Laboratório de Endocrinologia Animal da Universidade Estadual Paulista (UNESP) *Campus* Araçatuba-SP Brasil, foi constatada variação sazonal na concentração de LH sérico em novilhas Nelore ovariectomizadas, com correlação negativa com a variação do fotoperíodo<sup>22</sup>, o que suscitou o interesse em desenvolver este experimento.

Neste trabalho, foi testada a hipótese de que fêmeas da raça Nelore apresentam modificações no ciclo estral em função das estações do ano, conseqüência de uma variação sazonal na concentração de LH, avaliada em novilhas Nelore inteiras. E que essa variação estacional na concentração de LH ocorre em função de uma variação sazonal na sensibilidade hipotalâmica ao estradiol, avaliada em novilhas Nelore ovariectomizadas.

## 2 Material e Método

### 2.1 Animais

O presente trabalho teve aprovação do comitê de ética em experimentação animal da instituição local (2007-003614). Foram utilizadas 11 novilhas da raça Nelore com 36 meses de idade, nascidas em um intervalo de 30 dias, sendo seis inteiras e cinco ovariectomizadas a mais de dois anos, mantidas nas dependências do curso de Medicina Veterinária da UNESP *Campus* de Araçatuba-SP (Sul-21° 12' 32" e Oeste-50° 25' 58"), com acesso à água e a suplementação mineral, *ad libitum*. Foram pesadas mensalmente, manejadas em piquetes de *Brachiaria brizantha* e, nos meses de seca, semi-confinadas com uma mistura de bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado e ração balanceada (soja, milho e núcleo). A oferta de ração variou conforme o peso das novilhas, quando aconteceu, atingiu o máximo de 2 kg/dia por animal, os períodos de suplementação foram registrados.

Os parâmetros climáticos foram coletados na CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica Integral) de Araçatuba, e a variação no fotoperíodo local foi obtida no endereço eletrônico apolo11<sup>23</sup>.

### 2.2 Experimento

As seis novilhas inteiras foram examinadas por ultrassonografia trans-retal ao longo de um ano, no qual foram analisados dois ciclos estrais por estação climática por animal. Antes do início dos exames em cada ciclo, o estro foi sincronizado com duas aplicações de agente luteolítico (Cloprostenol sódico - Ciosin<sup>®</sup> ou d-Cloprostenol - Prolise<sup>®</sup>) na dose 530µg, intramuscular, com intervalo de 12 dias. Após a segunda aplicação, as novilhas foram submetidas diariamente a exames ultrassonográficos, pelos quais foram observadas as ovulações induzidas pelo tratamento hormonal (D0) e, a partir de então,

acompanhado todo o ciclo estral até a ovulação seguinte, identificada pelo desaparecimento do folículo dominante, ou até D24, novilhas que não ovularam até o 24<sup>a</sup> dia, tiveram os dados do ciclo estral excluídos da análise estatística. Foi utilizado aparelho de ultrassom da marca GE (General Electric<sup>®</sup>) modelo Logic 100, equipado com um transdutor linear de 5 MHz. Os exames ultrassonográficos foram realizados por uma única pessoa, sempre por volta das 6 h, quando foram avaliados ambos os ovários, contado e mensurado os diâmetros (média da soma da altura e largura do antro folicular, congelando a imagem na área aparente de maior diâmetro) de todos os folículos  $\geq 3$  mm. Os folículos foram posteriormente separados e avaliados: o diâmetro do maior folículo, o número total de folículos e o número de diferentes categorias ( $3 \leq n \leq 5$  mm - pré-desvio folicular,  $5 < n \leq 9$  mm e  $9 < n \leq 14$  mm).

Diariamente durante os ciclos estrais, todas as novilhas inteiras foram submetidas a duas colheitas de sangue, a primeira imediatamente antes da realização do exame ultrassonográfico, por volta das 6 h, e a segunda por volta das 18 h. Com a apresentação de sinais de estro (muco vaginal, folículo dominante e comportamento de aceitar a monta) as amostras de sangue foram colhidas a cada três horas até a ovulação, para identificação do pico de LH. Foram utilizadas amostras a cada três dias em cada ciclo, no período da manhã, para quantificação de P4.

Uma vez por estação, as cinco novilhas ovariectomizadas receberam  $17\beta$ -estradiol ( $2\mu\text{g}$  por kg de p.v.) e tiveram amostras de sangue colhidas antes da aplicação e a cada três horas, por 30 horas, para avaliação da secreção de LH.

Todas as novilhas tiveram amostras de sangue colhidas a cada quatro dias para avaliação do perfil circannual da concentração plasmática basal de LH, das novilhas inteiras foram excluídos eventuais picos, e das novilhas ovariectomizadas foram excluídos os tratamentos.

### 2.3 Quantificação Hormonal

As quantificações hormonais foram realizadas por radioimunoensaio (RIA) no Laboratório de Endocrinologia Animal da Unesp de Araçatuba. Para a P4 das novilhas inteiras, foi utilizado “kit” comercial (COAT-A-COUNT, DPC®), com o coeficiente de variação (CV) intra-ensaio de 4,88% para o controle alto (20,67 ng/mL) e 7,92% para o controle baixo (0,11 ng/mL), com sensibilidade dos ensaios de 0,0191 ng/mL. Para quantificação de LH, foi realizado o RIA descrito por Bolt et al.<sup>21</sup>, com média do CV intra-ensaio foi de 9,36% para o controle alto (7,26 ng/mL) e de 13,31% para o controle baixo (0,34 ng/mL); o CV inter-ensaio foi de 12,37% para o controle alto e 13,74% para o controle baixo, com sensibilidade de 0,048 ng/mL.

### 2.4 Análise Estatística

Entre diferentes estações do ano, foi comparada a variação percentual ( $\Delta\%$ ) diária do fotoperíodo e os parâmetros climáticos, pelo teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn, e o número de ciclos com duas e três ondas foliculares, pelo teste exato de Fisher.

Foi comparado o diâmetro dos folículos dominantes de cada onda, nos ciclos com duas ondas, pelo teste t pareado, e nos ciclos com três ondas, por análise de variância (ANOVA) por medidas repetidas e o pós-teste de Tukey.

Entre as estações do ano, tanto para as novilhas inteiras quanto para as ovariectomizadas, a média do peso e da variação percentual ( $\Delta\%$ ) do peso foram comparadas por ANOVA por medidas repetidas com o pós-teste de Tukey. Este mesmo teste foi utilizado para o comprimento dos ciclos estrais e os dados foliculares obtidos pelos exames ultrassonográficos. Algumas dessas variáveis foram transformados em logaritmo ( $\text{LOG}_{10}(X+1)$ ) ou raiz quadrada ( $\text{SQRT}(X+1)$ ), quando não passaram no teste de normalidade de resíduos.

Tanto nas amostras das novilhas inteiras quanto das ovariectomizadas, foi utilizado o programa GrafPad Prism 3.00<sup>®</sup> para identificar picos de LH e calcular variáveis da secreção de LH: área total, área sob o pico, amplitude entre o primeiro e o último ponto do pico e a concentração máxima. Nas novilhas inteiras foram comparadas entre as diferentes estações: as características da secreção de LH, a concentração plasmática basal (sem picos) de LH durante os ciclos, o perfil circanual da concentração plasmática basal de LH, a concentração plasmática de P4, o valor máximo em cada ciclo e a concentração de LH em quatro amostras (D6, D9, D12 e D15) de cada ciclo. Já nas novilhas ovariectomizadas, foram comparadas entre as diferentes estações: as variáveis da secreção de LH, a concentração plasmática de LH (com picos) em resposta ao tratamento com estradiol e o perfil circanual da concentração plasmática basal de LH. Esses dados também foram transformados quando não passaram no teste de normalidade de resíduos.

Os valores máximos de P4, obtidos das novilhas inteiras, foram correlacionados à variação percentual do peso dos respectivos animais, por correlação de Pearson, e à variação percentual ( $\Delta\%$ ) diária do fotoperíodo, por correlação de Spearman.

Considerando o nível de significância de 5%, os dados foram apresentados como média e erro padrão da média.

### **3 Resultado e Discussão**

Foram identificadas diferenças que caracterizaram o clima tropical da região: temperaturas elevadas durante todo o ano, o verão com maior índice pluviométrico e o inverno como a estação de seca (Tabela 1). Houve diferença entre as estações na média da variação percentual ( $\Delta\%$ ) diária do fotoperíodo (Tabela 1), o que mostrou que embora esteja em uma zona intertropical, há diferença de 2 h 36 min entre os solstícios.

Foram avaliados 37 ciclos estrais, sendo 11 no outono, oito no inverno, nove na primavera e nove no verão. Outros 11 ciclos estrais foram excluídos por excederem 24 dias, sendo um no outono, quatro no inverno, três na primavera e três no verão.

Durante o experimento foram observados 25 ciclos com duas ondas (67,6%) e 12 ciclos com três ondas foliculares (32,4%). Em bovinos, mais de 95% dos ciclos estrais possuem duas ou três ondas foliculares<sup>14</sup>, podendo ocorrer variação num mesmo animal<sup>12,13</sup>, embora a maioria apresente o mesmo número de ondas em ciclos consecutivos<sup>14</sup>. Vacas Nelore têm a predominância de ciclos com duas<sup>12,24</sup> ou três ondas<sup>25</sup>, enquanto que novilhas, com três ondas foliculares<sup>12,24</sup>. Considerando a idade de 36 meses das novilhas deste experimento, a frequência de 67,6% de ciclos com duas ondas assemelha-se ao descrito para vacas.

No inverno, houve maior número de ciclos com três ondas foliculares, diferente ( $p=0,009$ ) do verão, somente com ciclos de duas ondas (Tabela 2). Contudo, a média do comprimento dos ciclos estrais não diferiu entre as estações, foi de  $21\pm 0,2$  dias durante todo o experimento (Tabela 2), concordando com a literatura<sup>12</sup>. Normalmente a duração da fase luteal é quem determina o número de ondas e o comprimento do ciclo estral<sup>11,12,26</sup>, porém, fatores que influenciam o desenvolvimento do folículo dominante na primeira onda podem ser responsáveis pela regulação do padrão de ondas<sup>14</sup>. O aumento na proporção de ciclos com três ondas foi associado à baixa qualidade da dieta e ao estresse térmico<sup>14,24</sup>. Apesar disso, outros autores não encontraram diferença sazonal tanto em Nelore<sup>12,25</sup> quanto em Brahman<sup>4</sup>, em relação ao número de ondas foliculares.

Nos ciclos estrais com duas ondas foliculares, não houve diferença ( $p=0,3216$ ) entre o diâmetro máximo do folículo dominante da primeira onda ( $12,1\pm 0,3$  mm) e o folículo pré-ovulatório ( $12,5\pm 0,3$  mm). Já nos ciclos que apresentaram três ondas foliculares, o diâmetro do folículo dominante da segunda onda foi menor ( $9,7\pm 0,4$  mm,  $p=0,0004$ ) que os da primeira onda ( $11,3\pm 0,4$  mm) e que os pré-ovulatórios ( $12,1\pm 0,2$  mm). Essa diferença entre os

folículos dominantes nos animais com três ondas foliculares, está de acordo com a literatura tanto para taurinos<sup>15</sup> como para zebuínos<sup>12</sup>, e pode ser explicado pela diferente produção de P4 pelo CL, que atinge a produção máxima entre o 5º e 11º dia do ciclo<sup>27</sup>, os altos níveis de P4 diminui a concentração<sup>17</sup> e a freqüência de pulsos de LH<sup>18</sup>, levando a um menor diâmetro, conseqüência de um menor período de crescimento do folículo dominante da segunda onda<sup>14</sup>. Ao contrario, baixas doses de P4 resultam em um maior diâmetro do folículo dominante, e uma maior fase de dominância, atrasando a emergência da próxima onda folicular<sup>17,20</sup>.

Nas novilhas inteiras, houve maior concentração de P4 plasmática (média durante todo o ciclo estral) no outono e no verão – fotoperíodo decrescente –, quando comparados com o inverno e a primavera – fotoperíodo crescente – (Figura 1A). Os valores máximos de P4 em cada ciclo foram maiores nas estações com fotoperíodo decrescente ( $p=0,002$ ; Figura 1D). Maiores concentrações de P4 em vacas sob fotoperíodo decrescente também foram encontradas por outros autores<sup>3,4</sup>. Uma possível explicação para isso seria uma maior sensibilidade do CL ao LH em animais expostos ao fotoperíodo negativo, com maior produção de P4, como já relatado em cultura de células luteínicas de *Bos taurus indicus*<sup>6,7</sup>.

Considerando que a alimentação possa modificar o metabolismo hepático da P4, as novilhas foram pesadas mensalmente, e o peso médio das novilhas inteiras avaliado durante o experimento foi  $622,5 \pm 8,9$ kg, enquanto o peso das ovariectomizadas foi  $647,4 \pm 20,7$ kg. O peso das novilhas inteiras no outono foi menor ( $p=0,0139$ ) que o peso na primavera, mas não houve diferença no peso das ovariectomizadas ( $p=0,1235$ ) entre as estações (Tabela 2). A média da variação percentual do peso das novilhas inteiras ( $p=0,2057$ ) e das ovariectomizadas ( $p=0,2815$ ) não apresentou variação sazonal (Tabela 2).

Não houve correlação entre os valores máximos de P4 encontrados em cada ciclo e a variação percentual ( $\Delta\%$ ) do peso do animal no respectivo mês do ciclo estral ( $p=0,6586$ ;  $r = -0.07511$ ), já entre o valor máximo de P4 e a variação percentual ( $\Delta\%$ ) diária no fotoperíodo, apresentaram correlação

negativa ( $p=0,0056$ ;  $r = -0,4465$ ). Os períodos em que houve maior suplementação – outono e inverno – não coincidiram com os períodos de menor concentração de P4 – inverno e primavera. Sendo assim, um possível efeito sazonal na função lútea de zebuínos não pode ser descartado. Convém salientar que as novilhas foram mantidas a pasto e suplementadas com bagaço de cana hidrolisado, recebendo no máximo 2 kg de ração por cabeça/dia. Considerando o peso médio das novilhas inteiras de 622,5 kg, elas receberam no máximo 0,3% do peso vivo de concentrado.

Houve um menor número total de folículos observados a cada dia ( $p=0,003$ ) no outono e verão, em comparação com o inverno e primavera (Tabela 2; Figura 1B). Dentre as categorias, houve um menor número de  $3 \text{ mm} \leq \text{folículos} \leq 5 \text{ mm}$  ( $p=0,0197$ ) no verão, em comparação com o inverno e a primavera (Tabela 2). Comparando os ciclos estrais analisados, uma menor quantidade de folículos  $\geq 3 \text{ mm}$  foi observada em estações onde houve maior concentração de P4 (Figuras 1B e 1D). Diferente do observado, Adams et al.<sup>20</sup> trataram novilhas holandesas com três diferentes doses de P4 e observaram um menor número de folículos  $\geq 4 \text{ mm}$  ao longo do ciclo tratado com a concentração mais baixa que a fisiológica, resultado do prolongamento da fase de dominância folicular, atrasando a onda de FSH e a fase de crescimento da onda seguinte. Sendo assim, nas novilhas Nelore, houve maior número de folículos emergidos ao longo de um ciclo estral, com menor concentração de P4.

Apesar da diferença entre as estações na concentração de P4, não houve diferença no padrão de secreção de LH: na área total ( $p=0,3184$ ), na área sob o pico ( $p=0,2230$ ), na amplitude entre o primeiro e o último ponto do pico ( $p=0,5419$ ), na concentração máxima de LH ( $p=0,3011$ ), na concentração plasmática basal de LH durante os ciclos ( $p=0,3500$ ) e na concentração plasmática circanual de LH (amostras colhidas a cada quatro dias excluindo eventuais picos;  $p=0,3167$ , Figura 3C). Das cinco novilhas ovariectomizadas estimuladas com  $17\beta$ -estradiol, três não apresentaram pico de LH no verão (Figura 2), conseqüência disso, a secreção de LH após a estimulação

estrogênica foi menor ( $p=0,0004$ ) no verão ( $0,8\pm 0,2$  ng/mL) que no outono ( $1,2\pm 0,4$  ng/mL), inverno ( $1,3\pm 0,4$  ng/mL) e na primavera ( $1,3\pm 0,5$  ng/mL). Mesmo a concentração plasmática circanual de LH (amostras colhidas a cada quatro dias) nas novilhas ovariectomizadas foi menor no verão que no outono ( $p=0,0214$ , Figura 3A), semelhante ao resultado descrito por Nogueira et al.<sup>22</sup>. Entretanto, a exemplo das novilhas inteiras, nas ovariectomizadas não encontramos variação sazonal nas características dos picos: área total ( $p=0,1976$ ), área sob o pico ( $p=0,0522$ ), amplitude entre o primeiro e o último ponto do pico ( $p=0,6873$ ) e concentração máxima de LH ( $p=0,1763$ ). O que diferiu foi a frequência de observação de picos de LH em resposta ao estradiol em apenas três, das cinco novilhas ovariectomizadas, no verão (Figura 2). Na raça Brahman, a ausência de influência sazonal também foi encontrada e houve diminuição na concentração plasmática de LH em vacas ovariectomizadas no verão<sup>8</sup>. Também em vacas *Bos taurus taurus* ovariectomizadas há relatos de maior secreção de LH em resposta ao estradiol, no equinócio de primavera<sup>9,10</sup>, e em novilhas no inverno<sup>29</sup>.

Ao longo do ciclo estral, o LH é secretado em pulsos, de 1 a cada 1-2 h, quando há pouca P4 após a ovulação, diminuindo para 1 a cada 3-4 h, no meio do ciclo quando a P4 é máxima, aumentando novamente após a luteólise e o aumento da produção de estradiol, até culminar no pico pré-ovulatório<sup>18,27</sup>. Como foi observada variação na concentração de P4 entre as estações (Figura 1C), o LH foi quantificado nas amostras colhidas nos dias D6, D9, D12 e D15 do ciclo estral, para avaliar a influência do LH sobre a concentração de P4 e da concentração de P4 sobre o LH. Porém, não foi encontrada variação sazonal nas concentrações plasmáticas de LH nestas amostras ( $p=0,4697$ ), o que reforça a hipótese de que haja uma variação na sensibilidade das células luteínicas ao LH, entre as estações, como descrito por Randel<sup>6</sup> e Rhodes et al.<sup>7</sup> em zebuínos.

Embora apresente efeito supressor sobre a secreção do LH<sup>18,27</sup>, a exposição prévia à P4 é necessária na sensibilização do hipotálamo ao estradiol, observado na secreção do pico de GnRH/LH<sup>19</sup>. Isto porque ela

aumenta a quantidade dos receptores de estradiol no hipotálamo mediobasal mais sensível à ocorrência do pico de LH<sup>30,31</sup>. A explicação da ocorrência de menor quantidade de folículos ovarianos nas estações com maiores concentrações de P4 (Figura 1B e 1D) encontrados neste experimento, pode estar na variação da sensibilidade hipotalâmica ao estradiol. A maior sensibilidade do hipotálamo ao estradiol durante a fase luteínica (com maior concentração de P4) permitiria que o estradiol produzido pelo folículo em crescimento suprimisse a secreção de FSH prematuramente, antecipando o momento da divergência folicular.

Ao longo da evolução, animais selvagens foram selecionados pela pressão ambiental para a ocorrência do parto em estações climáticas de maior oferta de alimento. Se observada a origem do *Bos taurus indicus*, encontramos o búfalo doméstico (*Bubalus bubalis*) da mesma família *Bovidae* oriundo da região indiana e com período de gestação não muito diferente, que possui estação reprodutiva bem definida nos dias curtos<sup>32</sup>. Analisando as condições climáticas indianas, observa-se que a oferta de pastagem aumenta com o início do verão, quando os ventos de monções sopram do oceano Índico para o continente, aumentando o índice pluviométrico<sup>33</sup>. Raciocinando segundo a teoria evolutiva de Darwin, nas condições climáticas indianas, animais com período de gestação de 9 (bovinos) e 10 (bubalinos) meses, devem apresentar atividade reprodutiva entre o fim do verão e o outono (fotoperíodo negativo), para que os partos ocorram no fim da primavera e início do verão, quando há melhores condições ambientais.

A manipulação hormonal do ciclo estral possibilitou um incalculável acréscimo à produção pecuária. Protocolos de sincronização de estro têm sido amplamente aplicados em diferentes espécies, contudo às que apresentam comportamento estral sazonal parecem não ser adequadamente responsivas a tratamentos com progestágenos e estrógenos, durante estação desfavorável à reprodução, como foi observado em cabras ovariectomizadas<sup>34</sup>, o que indica que possa haver uma alteração na expressão de receptores ao longo das estações. Em búfalas, o bloqueio do desenvolvimento folicular, após a

aplicação de valerato de estradiol e norgestomet, pareceu ser menos intenso fora da estação reprodutiva<sup>35</sup>. Rao e Pandey<sup>36</sup> observaram que as concentrações basais de 17  $\beta$ -estradiol e LH, em búfalas com ciclos estrais regulares, não variaram ao longo do ano, contudo, foram significativamente mais altas próximas ao estro na estação reprodutiva favorável. Em ovelhas foi observado maior expressão de receptores de estradiol na área préptica em dias longos, comparado à dias curtos<sup>37</sup>. Observando a variação estacional da resposta de LH à aplicação de 17  $\beta$ -estradiol obtida nesse experimento (Figura 3) é possível supor que no Nelore haja uma menor expressão de receptores hipotalâmicos para estradiol, na região mais favorável ao pico de LH, no verão.

Durante a domesticação, os zebuínos foram selecionados contra a característica sazonal reprodutiva e hoje a subespécie apresenta capacidade de reprodução durante todo o ano<sup>38</sup>, confirmado nesse experimento, porém, algumas características ainda guardam uma herança do processo evolutivo.

#### **4 Conclusão**

Novilhas da raça Nelore apresentaram alteração sazonal no ciclo estral, observada na variação da concentração de P4, no número de folículos e no número ondas foliculares. Essas alterações não foram relacionadas à concentração de LH nas novilhas inteiras, pois esta não variou entre as estações do ano.

Houve variação na resposta da secreção de LH ao 17 $\beta$ -estradiol, em novilhas ovariectomizadas, provável consequência da modificação da sensibilidade hipotalâmica ao estradiol.

#### **Referências**

1. WHITE, F. J.; WETTEMANN, R. P.; LOOPER, M. L.; PRADO, T. M.; MORGAN G. L. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in

nonlactating beefs cows. **Journal of Animal Science**. v. 80, n. 12, p. 3053-3059, 2002.

2. GAMA FILHO, R. V.; FONSECA, F. A.; UENO, V. G.; FONTES, R. S.; QUIRINO, C. R.; RAMOS J. L. G.; Sazonalidade na dinâmica folicular ovariana e produção embrionária em novilhas da raça Guzzerá, **Brazilian Journal of Veterinarian Reserch Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 422-427, 2007.

3. LAMOTHE-ZAVALETA, C.; FREDRIKSSON, G.; MADEJ, A. Reproductive performance of zebu cattle in Mexico 2. Seasonal influence on the levels of progesterone, estradiol-17 $\beta$ , cortisol and LH during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 36, n. 6, p. 897-912, 1991.

4. ZEITOUN, M. M.; RODRIGUEZ, H. F.; RANDEL, R. D. Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. **Theriogenology**, v. 45, n. 8, p. 1577-1581, 1996.

5. BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; ROCHA JUNIOR, V. R.; CARVALHO, G. R. Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas das raças Gir e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, p. 276-283, 2003.

6. RANDEL, R. D. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v. 21, n. 1, p. 170-185, 1984.

7. RHODES, R. C.; RANDEL, R. D.; LONG, C. R. Corpus luteum in the bovine: in vivo in vitro evidence for both a seasonal and breedtype effect. **Journal of Animal Science**, v. 55, n. 1, p. 159-167, 1982.

8. KINDER, J. E.; WHYTE, T. R.; CREED, A.; ASPDEN, W. J.; D'OCCHIO, M. J. Seasonal fluctuations in plasma concentrations of luteinizing hormone and

progesterone in Brahman (*Bos indicus*) and Hereford-Shorthorn (*Bos taurus*) cows grazing pastures at two stocking rates in a subtropical environment. **Animal Reproduction Science**, v. 49, n. 2-3, p. 101-111, 1997.

9. STUMPF, T. T.; DAY, M. L.; WOLFE, P. L.; WLF, M. W.; CLUTTER, A. C.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Feedback of 17 $\beta$ -estradiol on secretion of luteinizing hormone during different seasons of the year. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 2, p. 447-451, 1988.

10. DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; PENNEL, P. L.; ZALESKY, D.D.; CLUTTER, A. C.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Influence of season and estradiol on secretion of luteinizing hormone in ovariectomized cows. **Biology of Reproduction**, v. 35, n. 3, p. 549-553, 1986.

11. GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, n. 1, p. 223-230, 1989.

12. FIGUEIREDO, R. D.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1489-1505, 1997.

13. RHODES, F. M.; DE'ATH, G.; ENTWISTLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 38, n. 4, p. 265-277, 1995.

14. ADAMS, G. P.; JAISWAL, R.; SINGH, J.; MALHI, P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 1, p. 72-80, 2008.

15. SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycles in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, n. 2, p. 308-317, 1988.
16. GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, n. 6, p. 1187-1194, 1996.
17. GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: Role of luteinizing hormone. **Biology of reproduction**, v. 64, n. 1, p. 197-205, 2001.
18. MIHM, M. Follicle wave growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n 4, p. 191-200, 2002.
19. GÜMEN, A.; WILTBANK, M. C. An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 66, n. 6, p. 1689–1695, 2002.
20. ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journals of Reproduction & Fertility** v. 95, n. 2, p. 627-640, 1992.
21. BOLT, D. J.; SCOTT, V.; KIRACOFÉ, G. H. Plasma LH and FSH after estradiol, norgestomet and Gn-RH treatment in ovariectomized beef heifers. **Animal Reproduction Science.**, v. 23, n. 4, p. 263-271, 1990.
22. NOGUEIRA, G. P.; OLIVEIRA, D. J. C.; CIPRIANO, R. S. Variação sazonal da secreção de LH em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 3, p. 1018, 2007.

23. EFEMÉRIDES de Araçatuba-SP. Disponível em: <<http://www.apolo11.com/efemerides.php>>. Acesso em: 10 fev. 2009.
24. BO, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 307-326, 2003.
25. BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; ROCHA JUNIOR, V. R.; RUAS, J. R. M.; GIOSO, M. M.; FONSECA, J. F.; CARVALHO, G. R.; MALFFILI, V. V. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 346-354, 2004.
26. FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, n. 2, p. 225-232, 1994.
27. MIHM, M.; DISKIN, M. G.; ROCHE, J. F. Regulation of follicular growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 31, n. 3, p. 531–538, 1996.
28. BUTTLER, W. R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2533-2539, 1998.
29. CRITZER, J. K.; MILLER, K. F.; GUNSETT, F. C.; GINTHER, O. J. Seasonal LH profile in ovariectomized cattle. **Theriogenology**, v. 19, n. 2, p. 181-191, 1983.
30. BLACHE, D.; FABRE-NYS, C. J.; VENIER, G. Ventromedial hypothalamus as a target for oestradiol action on proceptivity, receptivity and luteinizing hormone surge of the ewe. **Brain Research**, v. 546, n. 2, p. 241-249, 1991.

31. CARATY, A.; SKINNER, D. C. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. **Endocrinology**, v. 140, n. 1, p. 165-170, 1999.
32. MADAN, M. L.; DAS, S. K.; PALTA, P. Application of reproductive technology to buffaloes. **Animal Reproductive Science**, v. 42, n. 2, p. 299-306, 1996.
33. CLIMA de Monções. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Mon%C3%A7%C3%A3o>>. Acesso em: 10 fev. 2009.
34. BILLINGS, H. J.; KATZ, L. S. Progesterone facilitation and inhibition of estradiol-induced sexual behavior in the female goat. **Hormones and Behavior**, v. 31, n. 1, p. 47-53, 1997.
35. BARTOLOMEU, C. C. **Estudo da dinâmica folicular durante o tratamento com CIDR-B e Crestar visando, a inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*)**. 2003. 123f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
36. RAO, L. V.; PANDEY, R. S. Seasonal variations in oestradiol-17 beta and luteinizing hormone in the blood of buffalo cows (*Bubalus bubalis*). **Journal Endocrinology**, v. 98, n. 2, p. 251-255, 1983.
37. SKINNER, D. C.; HERBISON, A. E. Effects of photoperiod on estrogen receptor, tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y, and  $\beta$ -endorphin immunoreactivity in the ewe hypothalamus. **Endocrinology**, v. 138, n. 6, p. 2585-2595, 1997.

38. HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. p. 160.

Tabela 1 - Caracterização climática (média±EPM) diária da temperatura, da pluviosidade, do fotoperíodo e da variação no fotoperíodo, nas diferentes estações durante o experimento (Sul-21° 12' 32" e Oeste-50° 25' 58") – Araçatuba-SP, 2009

Variável	2007			2008
	Outono	Inverno	Primavera	Verão
Temperatura Máxima (°C)	29,27±0,6 <sup>c</sup>	30,60±0,5 <sup>bc</sup>	33,32±0,4 <sup>a</sup>	31,81±0,3 <sup>b1</sup>
Temperatura Mínima (°C)	15,32±0,5 <sup>b</sup>	14,19±0,3 <sup>b</sup>	19,74±0,2 <sup>a</sup>	20,26±0,1 <sup>a</sup>
Temperatura Média (°C)	22,29±0,4 <sup>b</sup>	22,40±0,4 <sup>b</sup>	26,53±0,3 <sup>a</sup>	26,03±0,2 <sup>a</sup>
Pluviosidade mm/dia	2,65±1,1 <sup>b</sup>	0,98±0,5 <sup>b</sup>	2,76±0,8 <sup>a</sup>	5,69±1,5 <sup>a</sup>
Fotoperíodo (h:min)	11:20	11:20	12:55	12:55
Variação diária no fotoperíodo (%)	-0,12±0,0 <sup>b</sup>	0,12±0,0 <sup>a</sup>	0,12±0,0 <sup>a</sup>	-0,12±0,0 <sup>b</sup>

Valores seguidas por letras distintas na linha, diferem entre si ( $p < 0,001$ ) pelo teste de Dunn.  
1 - Média difere de letras distintas ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2 – Comparação das características dos ciclos estrais entre as estações – (média±EPM) do número de folículos observados em cada dia, de diferentes categorias, do diâmetro do folículo pré-ovulatório, do comprimento dos ciclos, do peso das 8 novilhas Nelore inteiras nos meses em que houve ciclos, da variação do peso nesses meses, do peso das novilhas ovariectomizadas nos meses em que houve tratamento e da variação de peso nesses meses. Comparação do número de ciclos estrais com 2 e 3 ondas foliculares, entre as estações – Araçatuba-SP, 2009

Variável	2007			2008
	Outono(n=13)	Inverno(n=8)	Primavera(n=9)	Verão(n=9)
Folículos totais	7,8±0,1 <sup>b</sup>	9,6±0,3 <sup>a</sup>	9,7±0,3 <sup>a</sup>	6,8±0,2 <sup>b</sup>
3mm ≤ Folículos ≤ 5mm	6,2±0,1 <sup>ab</sup>	7,8±0,3 <sup>a</sup>	7,7±0,3 <sup>a</sup>	4,9±0,2 <sup>b</sup>
5mm < Folículos ≤ 9mm	1,0±0,0 <sup>a</sup>	1,2±0,1 <sup>a</sup>	1,4±0,1 <sup>a</sup>	1,2±0,1 <sup>a</sup>
9mm < Folículos ≤ 14mm	0,6±0,0 <sup>a</sup>	0,6±0,0 <sup>a</sup>	0,6±0,0 <sup>a</sup>	0,6±0,0 <sup>a</sup>
Folículo pré-ovulatório (mm) <sup>1</sup>	12,0±0,5 <sup>ab</sup>	11,6±0,4 <sup>b</sup>	12,1±0,3 <sup>ab</sup>	13,1±0,5 <sup>a</sup>
Número de ciclos com 2 e 3 ondas foliculares <sup>2</sup>	7 e 4 <sup>ab</sup>	3 e 5 <sup>a</sup>	6 e 3 <sup>ab</sup>	9 e 0 <sup>b</sup>
Comprimento dos ciclos (dias)	20,8±0,4 <sup>a</sup>	20,9±0,5 <sup>a</sup>	21,1±0,5 <sup>a</sup>	20,6±0,5 <sup>a</sup>
Peso (kg) das novilhas inteiras	583,6±8,8 <sup>b</sup>	629,3±13,7 <sup>ab</sup>	655,2±24,9 <sup>a</sup>	629,9±14,8 <sup>ab</sup>
Variação (%) do peso das novilhas inteiras	0,6±0,3 <sup>a</sup>	3,4±0,8 <sup>a</sup>	0,1±1,9 <sup>a</sup>	-0,6±1,7 <sup>a</sup>
Peso (kg) das novilhas ovariectomizadas	579,2±19,5 <sup>a</sup>	624±22,1 <sup>a</sup>	703,2±64,8 <sup>a</sup>	683,2±25,6 <sup>a</sup>
Variação (%) do peso das novilhas ovariectomizadas	0,8±0,4 <sup>a</sup>	2,6±0,3 <sup>a</sup>	0,9±3,5 <sup>a</sup>	-2,4±0,3 <sup>a</sup>

Médias seguidas por letras distintas na linha, diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

1 Médias seguidas por letras distintas na linha, diferem entre si ( $p = 0,06$ ) pelo teste de Tukey.

2 Médias seguidas por letras distintas na linha, diferem entre si ( $p < 0,01$ ) pelo teste de Fisher.

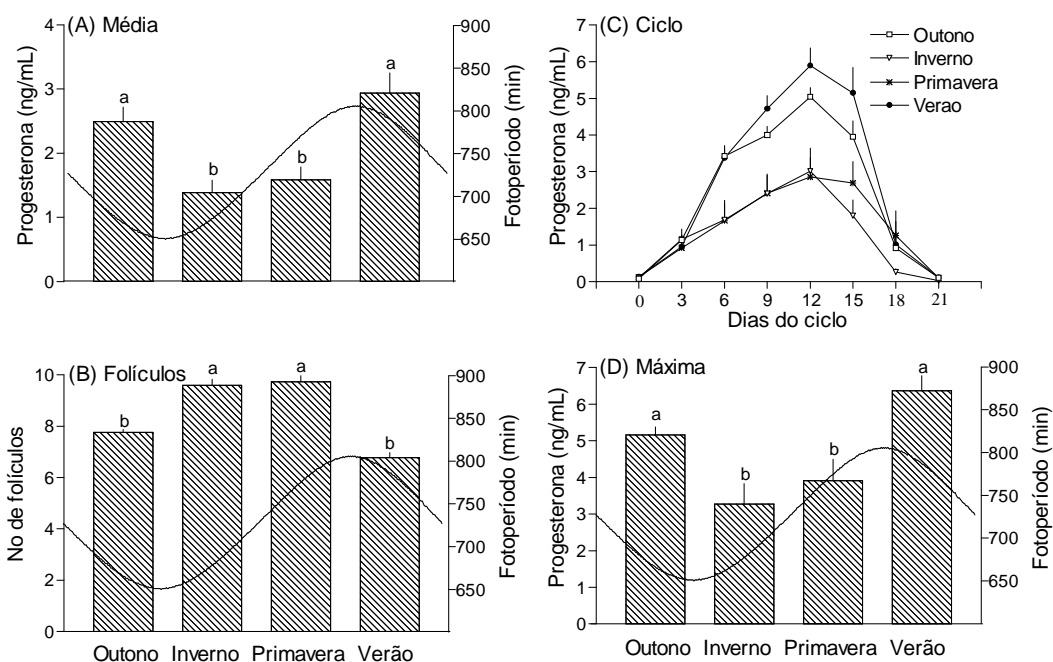


FIGURA 1 – (A) Concentração de progesterona plasmática média durante o ciclo estral, (B) número de folículos  $\geq 3$  mm observados em cada dia, (C) concentração de progesterona plasmática a cada três dias e (D) concentração de progesterona plasmática máxima (média $\pm$ EPM) nos ciclos estrais acompanhados por estação (outono-n=11; inverno-n=8; primavera-n=9; verão-n=9) de seis novilhas Nelore, em função do fotoperíodo. Barras com letras distintas, diferem entre si (p<0,01) pelo teste de Tukey – Araçatuba-SP, 2009.

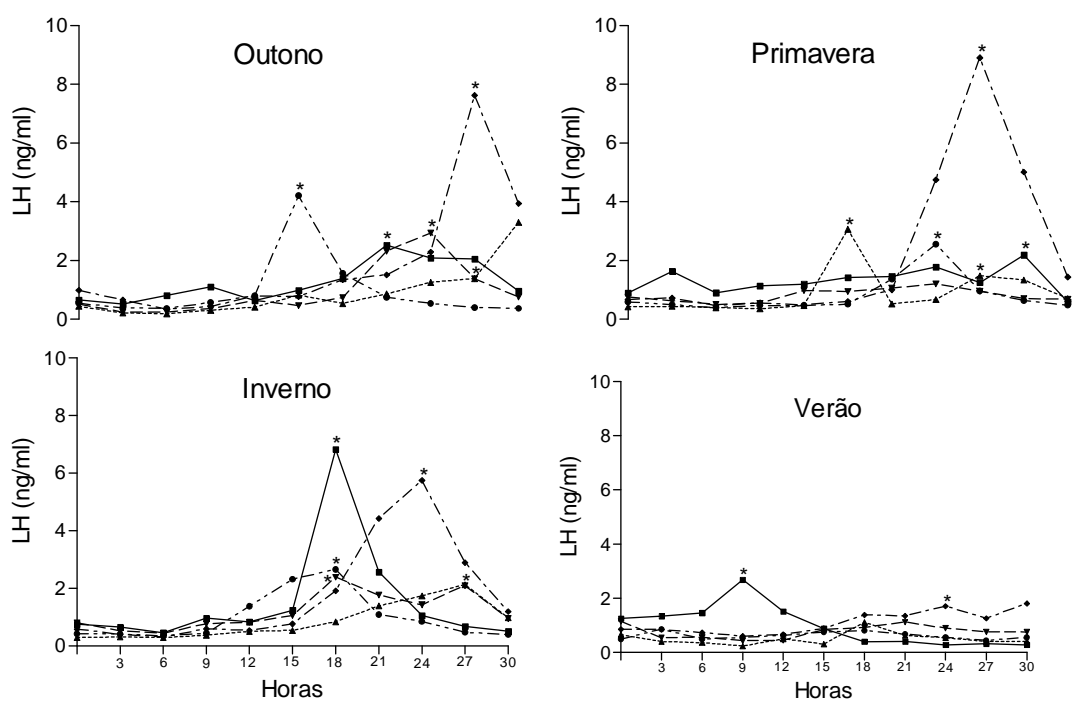


FIGURA 2 - Concentração plasmática de LH em cinco novilhas Nelore ovariectomizadas, no momento e a cada 3h após a aplicação de  $17\beta$ -estradiol ( $2\mu\text{g}$  por kg de peso vivo), nas diferentes estações do ano. \* = picos de LH – Araçatuba-SP, 2009.

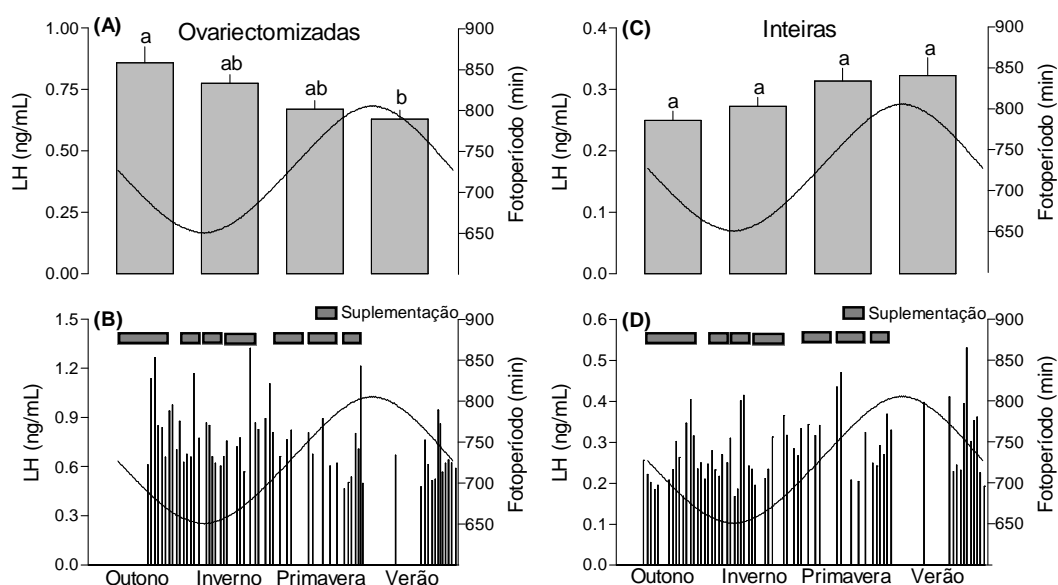


FIGURA 3 - (A) Concentração plasmática de LH, amostras a cada quatro dias, de cinco novilhas Nelore ovariectomizadas (excluindo os períodos de tratamento com  $17\beta$ -estradiol) nas diferentes estações do ano (média $\pm$ EPM). (B) Médias da concentração plasmáticas de LH, amostras a cada quatro dias, de cinco novilhas Nelore ovariectomizadas (incluindo os períodos de tratamento com  $17\beta$ -estradiol) ao longo do ano, com o período de suplementação. (C) Concentração plasmática de LH, amostras a cada quatro dias (excluindo os picos pré-ovulatórios), de seis novilhas Nelore inteiras nas diferentes estações do ano (média $\pm$ EPM). (D) Médias da concentração plasmática basal de LH, amostras a cada quatro dias (excluindo os picos pré-ovulatórios), de seis novilhas Nelore inteiras ao longo do ano, com o período de suplementação – em função do fotoperíodo. Barras com letras distintas, diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey – Araçatuba-SP, 2009.

## APÊNDICE

## Apêndice A – Normas editoriais da revista

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

#### Normas editoriais

O periódico *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* é publicado bimestralmente pela Fundação de Medicina Veterinária (FUMVET) e destina-se a publicar trabalhos científicos sobre medicina veterinária e ciências afins. Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação da Comissão Editorial, com assessoria de especialistas da área (*peer review*). A lista de colaboradores (relatores) é publicada no último fascículo/ano de cada volume. Os trabalhos cujos textos necessitarem de revisões ou correções que não puderem ser feitas pelos editores serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade dessa revista. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. No momento da submissão do trabalho à revista é obrigatório apresentar a aprovação do protocolo experimental por Comitê de Ética. Qualquer que seja o tipo do trabalho, deverá ser inédito e destinar-se exclusivamente a esse periódico, sendo obrigatório anexar declaração assinada por todos os autores expressando concordância no pagamento de tarifa como condicionante à sua publicação.

Os trabalhos para publicação deverão ser encaminhados a:  
Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science  
Setor de Publicação  
Av. Prof. Dr. Orlando de Marques Paiva, 87  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
CEP 05508-270 – São Paulo – SP – Brasil  
Telefone: 0055 11 3091 1472/ 3091 7636  
Fax: 0055 11 3091 7636  
e-mail: [bjvras@fumvet.com.br](mailto:bjvras@fumvet.com.br)

#### Artigo completo

1 - Limitar-se ao máximo de dez páginas digitadas, dentro da estrutura do item cinco, não sendo contadas as páginas onde constem tabelas e ilustrações. 2 - Ser escrito em língua portuguesa ou em língua inglesa. 3 - Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo. 4 - Ser estruturado dentro dos seguintes itens: a) Introdução; b) Materiais e Métodos; c) Resultados; d) Discussão; e) Conclusões; f) Referências; g) Resumo/Palavras-chave; Abstract/Key-words. 5 - Apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, nos idiomas inglês e português, não devendo ultrapassar 250 (duzentas e cinquenta) palavras, seguidos das palavras-chave, limitadas a cinco, que correspondem a palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo.

#### Nota prévia

1 - Limitar-se ao máximo de três páginas digitadas. 2 - Ser escrita em língua portuguesa ou em língua inglesa. 3 - Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do

artigo. 4 - Não devem ser subdivididos em seções separadas (Introdução, Materiais e Métodos etc.), mas devem apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, com palavras-chave, conforme descrito na apresentação de Artigo completo, além de referências.

#### Artigos de revisão

Só poderão ser publicados por especialistas de renome a convite da Comissão Editorial. Não devem ser subdivididos em seções separadas (Introdução, Materiais e Métodos etc.), mas devem apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, com palavras-chave, conforme descrito na apresentação de Artigo completo, além de referências.

#### Apresentação dos trabalhos

1 - **Digitação:** original em CD, devidamente identificado com o título do artigo e nome do(s) autor(es) e três cópias impressas, inclusive suas tabelas e referências; deve ser digitado, obrigatoriamente, em formato A4 (21,0 x 29,7cm), espaço duplo, em uma só face de papel, margens de 2,5cm, fonte Times New Roman tamanho 10 e numeração consecutiva das páginas. Ilustrações e legendas devem ser relacionadas em folhas separadas. O texto dos artigos deve ser apresentado utilizando-se o editor de texto Microsoft Word. 2 - **Página de rosto:** elemento obrigatório, onde deve conter o título do artigo, nome(s) do(s) autor(es) e instituição de origem. Observar que unicamente nesta página conste a identificação dos autores, para o devido sigilo e imparcialidade. No rodapé da página deve-se mencionar o endereço completo (inclusive e-mail) do autor para correspondência. Se o artigo for subvencionado, mencionar a instituição que o patrocinou, assim como os agradecimentos; 3 - **Tabelas:** devem ser numeradas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, seguido de local e data. Na montagem das tabelas seguir: IBGE. Normas de apresentação tabular. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1993. 61 p. O limite de tabelas por trabalho é de cinco. Em casos excepcionais, conhecida a opinião da Comissão Editorial, este número poderá ser ultrapassado. No texto devem ser indicadas pela palavra Tabela (por extenso). 4 - **Ilustrações** (fotografias, gráficos, quadros, desenhos ou esquemas): devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras no texto. As fotografias devem ser identificadas somente com o título do artigo, além de conter no verso a indicação de seu correto posicionamento. Fotos fornecidas em papel fotográfico devem ter ótima resolução, em CD com a extensão .TIF e resolução mínima de 300 dpi's. As legendas de ilustrações coloridas devem estar referenciadas somente por setas, símbolos e pontos quando publicadas em preto e branco. Gráficos, desenhos ou esquemas devem ser fornecidos no CD, impressos em folha à parte identificada somente com o título do artigo, além das respectivas legendas. Todas as ilustrações devem ser fornecidas

em três vias. Os gráficos devem trazer sempre os valores numéricos que lhes devam origem. Desenhos e esquemas devem apresentar boa qualidade técnica e artística. Aceitar-se-á um número máximo de nove ilustrações por artigo, sugerindo-se a seguinte distribuição: três fotografias, três gráficos e três desenhos/esquemas. Acima deste limite, as despesas com reprodução correrão por conta do autor. Ilustrações coloridas, independentemente do número, serão cobradas. No texto devem ser indicadas pela palavra Figura (por extenso). Indicar junto ao título da ilustração o local e data. 5 - **Referências:** devem ser numeradas, ao final do artigo, de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Os títulos de periódicos devem ser mencionados de maneira uniforme, de preferência todos por extenso. As referências seguem a normalização da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 6023, que deve ser consultada para outros tipos de documentos aqui não exemplificados.

#### Exemplos de Apresentação dos Autores nas Referências:

BONAGURA, J. D. (um autor)  
SANTOS, J. A.; MELLO, M. R. (dois autores)  
BENNETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. (três autores)  
VILELA, D.; MARTINS, C. E.; BRESSAN, M.; CARVALHO, L. A. [...] (quatro autores ou mais) ou VILELA, D. et al. (sem itálico).

#### Exemplo de periódico

1 KOTZEKIDOV, P.; BLOUKAS, J. G. Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelflife of sliced vacuum-pocked cooked ham. *Meat Science*, v. 42, n. 3, p. 333-345, 1996.

#### Exemplo de livro

2 HALLIWELL, R. E. W.; GORMAN, N. T. *Veterinary clinical immunology*. London: W. B. Saunders, 1989. 548 p.

#### Exemplo de autor diferente para o livro e capítulo

3 FENNER, W. R. Avaliação neurológica dos pacientes. In: ETTINGER, S. J. *Tratado de medicina interna veterinária*. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 577-606.

#### Exemplo de mesmo autor para o livro e capítulo

4 THORNTON, H. Deleterious changes in meat. In: THORNTON, H. *Aspects of meat inspection*. London: Thindall & Cassel, 1973. p. 63-72.

#### Exemplo de tese

5 BIRGEL, E. H. *Estudo do quadro eritrocitário de caprinos (Capra hircus, L.) normais criados no Estado de São Paulo: influências de fatores raciais, sexuais, etários e alimentares*. 1973. 92 f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.

#### Exemplo de evento

6 OLIVEIRA, C. A. Hormonoterapia em cadelas e gatas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. p. 100-111.

#### Exemplo de livro eletrônico

7 POORE, M. H. *Alternative feeds for beef cattle*. North Carolina: North Carolina Corporate Extension Service, 1994. Disponível em: <<http://www.ces.ncsu.edu/drought/dro-28.html>>. Acesso em: 23 abr. 2007.

#### Exemplos de artigos de periódicos eletrônicos

8 MENDONÇA JR., C. X.; MARTINS, A. P.; MORI, A. V.; SILVA, A. B.; MORI, C. S. Efeito da adição de óleo de peixe à dieta sobre o desempenho e níveis de lipídios plasmáticos e de colesterol no ovo de galinhas poedeiras. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, n. 1, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iach/scielo>>. Acesso em: 31 jan. 2001

6 - **Citações:** utilizar o Sistema Numérico. As citações devem ser feitas por numeração única e consecutiva em sobrescrito, utilizando-se algarismos arábicos, remetendo à lista de referências na mesma ordem em que aparecem no texto. Quando indispensável para a compreensão do texto, combinar o(s) sobrenome(s) do(s) autor(es) com a indicação do número. Neste caso, a citação será pelo sobrenome de cada autor ou pelo nome da entidade responsável que aparece na respectiva referência. Quando se tratar de três autores, todos devem ser citados. No caso de mais de três autores, a citação deve ser acompanhada pelo sobrenome do primeiro autor seguido da expressão et al. (sem itálico). Se a citação estiver inserida no texto utilizar letras maiúsculas e minúsculas; se estiver entre parênteses utilizar somente letras maiúsculas.

#### Exemplos:

Um autor  
Segundo Yanaguita<sup>9</sup> ou (YANAGUITA<sup>9</sup>)

Dois autores  
Soares e Alves<sup>13</sup> ou (SOARES; ALVES<sup>13</sup>)

Três autores  
Bennett, Abee e Henrickson<sup>12</sup> ou (BENNETT; ABEE; HENRICKSON<sup>12</sup>)

Quatro ou mais autores  
Vilela, Martins, Bressan e Carvalho<sup>28</sup> ou Vilela et al.<sup>28</sup> (VILELA; MARTINS; BRESSAN; CARVALHO<sup>28</sup>) OU (VILELA et al.<sup>28</sup>)

Tarifa de publicação: A tarifa de publicação de R\$ 40,00, por página impressa, será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores.