

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

**MATURAÇÃO SEXUAL EM BEZERRAS NELORE COM
SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR**

Maria Carolina Villani Miguel

Médica Veterinária

Araçatuba – SP

2013

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

MATURAÇÃO SEXUAL EM BEZERRAS NELORE COM
SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

Maria Carolina Villani Miguel

Orientador: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira

Araçatuba – SP

2013

Catálogo na Publicação (CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação

Miguel, Maria Carolina Villani

M636m Maturação sexual em bezerras Nelore com suplementação alimentar / Maria Carolina Villani Miguel.
Araçatuba: [s.n], 2013
122f. il.; + CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2013

Orientador: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira

1. Fisiologia - bovinos 2. Puberdade. 3. Desmama 4. Gonadotrofinas. 5. Ovário. 6. Leptina

CDD 636.0892

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MARIA CAROLINA VILLANI MIGUEL nascida no dia 10 de julho de 1979, no município de São Paulo – SP. É médica veterinária formada pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal (2003). Foi bolsista de iniciação científica, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), durante o período de setembro de 2002 a agosto de 2003. Realizou Especialização em Clínica e Cirurgia Veterinárias pela Universidade Federal de Viçosa, de 2004-2005 e em Produção e Reprodução de Bovinos pela Universidade Castelo Branco – Campus de Piracicaba, de 2006-2007. Na mesma instituição que se graduou, concluiu o Mestrado (2010) em Medicina Veterinária, na área de Reprodução Animal. Em março de 2010, ingressou no doutorado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba no programa em Ciência Animal, na área de concentração Fisiopatologia Médica e Cirúrgica. Foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) no primeiro ano do doutorado e bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, nº 2010/51830-5) durante os últimos dois anos e meio. No período de abril a julho de 2013, realizou período sanduíche do doutorado na School of Agriculture and Food Science, da University College Dublin, Dublin, Irlanda, sob supervisão do Dr. Alexander C. O. Evans.

*“O correr da vida embrulha tudo.
A vida é assim: esquenta e esfria,
aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem.”*

(Guimarães Rosa)

Dedico

*Aos meus pais, Jorge Luís Miguel e Maria Cristina Villani Miguel por
serem os exemplos e os alicerces da minha vida;*

*Ao meu noivo Vicente García Fregonesí pela compreensão, carinho e
amor.*

Sem vocês nada seria possível!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, pelas oportunidades de crescimento, por guiar meus caminhos e me proteger.

Aos meus pais, Jorge Luís e Maria Cristina, por serem meus guias, meus Amigos, por acreditarem em mim antes de todos, por me permitirem sonhar e ir atrás desse sonho. Obrigada pela formação, educação, segurança e por serem meus exemplos de dedicação, trabalho, força, esperança e amor! Amo vocês!

Ao Vicente, meu amor! Meu amigo, parceiro e confidente! Obrigada por entender minha ausência (principalmente no nascimento das bezerras e no período da Irlanda) e por estar ao meu lado sempre independente da distância! Por acreditar em mim! Você é um exemplo de que com calma e perseverança atingimos nossos objetivos. Obrigada por ter entrado na minha vida! Amo você!

À minha família! Obrigada por vocês existirem! Pelo amor, pela força, pelo carinho e por ser a nossa família! Vó Chista, Vó Lú, Tio Paulo, Tia Milka, Tia Zéca, Tia Tutu, Tia Cici, Tio Dito, Tia Gina, Tio Mário, Tia Edna, João Pedro, Dudu, Má, Cauan, Fê, Aninha, Reginaldo, Mari, Marcelo, Pedrão, Beta, Renata, Sidney, Luiz, Sr. Márcio, D. Lúcia, Clari, Maurício, Dani, Gui, Vitória, Marina e Maria Fernanda. Como é grande o meu amor por vocês!

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA-UNESP), na figura do diretor Prof. Dr. Francisco Leydson Feitosa e ao programa de pós-graduação em Ciência Animal, por me receber e proporcionar a realização desse projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira pela oportunidade de crescimento, por acreditar na minha capacidade, por me proporcionar desafios e juntos alcançá-los. Pela oportunidade da Irlanda! Pelo exemplo de docente e pesquisador! Meu eterno muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Alexander C. O. Evans da School of Agriculture and Food Science pela oportunidade de ir para a University College Dublin, para conhecer o trabalho realizado pela sua equipe e a do Prof. Dr. Pat Lonergan e pelas análises dos resultados com a Dra. Siobhán Walsh, exemplo de pesquisadora e profissional. Aprendi muito com vocês! “Thanks a million for everything!”

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos durante o primeiro ano do doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos (2010/51830-5) e do financiamento do projeto (2011/50839-1) tornando possível a condução deste trabalho.

À Devani Mariano Pinheiro, pessoa especial! Técnica do Laboratório de Endocrinologia Animal e minha Amiga! Exemplo de dedicação e cumplicidade! Excelente profissional e mãezona! Cuidou dos meus ensaios e de mim! Sempre com um sorriso no rosto e a palavra certa quando menos se espera. Dê, obrigada por TUDO em todas as horas! E pra sempre para você “Bom dia Flor do Dia!” Adoro você!

À Profa. Dra. Cláudia Maria Bertan Membrive e Prof. Dr. Paulo Ciarlini por terem participado da banca de qualificação e pelas contribuições, muito obrigada! À Profa. Dra. Silvia Perri pelas análises estatísticas durante o experimento.

À Profa. Dra. Cláudia Maria Bertan Membrive, Prof. Dr. Ed Hoffman Madureira, Profa Dra. Flávia Lombardi Lopes e ao Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda por terem aceitado o convite de participação da banca de defesa e pelas valiosas contribuições, muito obrigada!

À equipe de pós-graduandos do Laboratório de Endocrinologia Animal, sem vocês muita coisa (ou quase tudo) não seria possível! Obrigada a todos pela dedicação, companheirismo, amizade, por muitas vezes deixarem as suas prioridades para me ajudar com as minhas e por estarem sempre ao meu lado sempre que precisei no curral, no lab, buscando milho, sorrindo ou comendo os dedos de desespero! À Sarita Gobbo (Sá) pela cumplicidade de quando eu mais precisei, ao Rafael Cipriano (Rafa) pelo começo de tudo, apesar da dor no ombro! À Heni Falcão (Heniiiiiiiiiii) por ter acompanhado tudo desde o dia do primeiro nascimento, por tudo que dividimos, sorrimos, choramos, pela cumplicidade e pelos segredos, Heniiiiii, ficou bacana! A Emiliana Batista (Mili) pelas inúmeras conversas e por dividirmos tanta coisa até hoje! A Juliana Stephani (Ju) pela cumplicidade, pelas risadas, pelas inúmeras conversas, “badizinhas”, por tudo que dividimos e conquistamos e pelos vídeos “super” legais nos dias de coletas seriadas e Ju, posso falar... ! Ao David Giraldo pela dedicação e comprometimento que você teve quando estagiário mesmo muitas vezes você não abrindo a porteira e agora no mestrado! Ao Marcos Maioli (Marcão) que chegou depois e me ensinou que o Prisma não morde! A Cássia (Cassinha) e a Rosineide Simas (Rosy) por terem sempre um sorriso no rosto. Gente, muito obrigada para sempre por TUDO, pelo trato, mamada, coleta seriada, protocolos, tubos e pelos inúmeros “1,2,3 e.....” e “Vamos tratar?” Valeu!

Aos “ICs” do Laboratório de Endocrinologia Animal Pedro Victor Oliveira (Colina) João Lucas Delfino (Butina - agora mestrando), Narian Romanello (Ná), Jefferson Tomelin (Bigato), Douglas Oliveira (Douglinha) e Beatriz Trigo (Bia) pela dedicação e comprometimento! E a todos os estagiários durante esses três anos e meio de doutorado Walter, Leandro, Tamiriz, Castanha, Paqueta, Thiago, Danilo, Tortuguita, Gabriel, Tomás, Débora, Giu, Carçoço, Duzão, Joel, Lutécia, Betinho, João Eduardo, Edinho, Lucas e Janine. Por ajudarem o nosso experimento acontecer! Sem vocês as coletas seriadas seriam mais quietas, descer as bezerras para o confinamento não teriam emoção, demoraria mais tempo para tratar e para realizar as centrifugações! Obrigado por terem matado aula ou outro estágio mesmo eu dizendo que não precisava e vocês ficaram (ainda bem!). Obrigada por todas as ajudas, pelas risadas, histórias e convívio. E “vamos trabalhar moçada....”

À minha Amiga Adriana Santana (Dri) por ter me recebido de braços e coração aberto em Araçatuba. Por ter se tornando minha irmã! Pela amizade, cumplicidade e carinho! Sem você aqui teria sido mais difícil e menos divertido! Amo você!

Aos meus amigos de caminhada, que fizeram muitas vezes tudo ficar mais tranquilo, por fazerem parte dos nossos momentos, muitas vezes a distância, mas tão presentes e tão queridos. Tiriça, Lulu, Gisele, Renatã, Isa, Xamú, Xena, Labamba, Ci casket, Juju, Letícia Zoccolaro, Ju Borges, Gringo, Ana Paula, Vera, Marcão, Verónica, Aline, Dé Valente, Bia Milliet, Brasa, Dani Herrera, Marcelo, Brasa, Sandrinha, Cinthia, Miriam, Dri Guedes, Silvia, Rachel e! Amo vocês!

Ao Dudu, Má, Cauan e Thiago por terem me proporcionado os melhores “bank holidays” e por serem meu porto seguro no estágio sanduíche. Sem vocês por perto teria sido muito mais difícil e bem menos divertido! Obrigada pelo carinho, segurança, amor e pelas Caledonians! Amo vocês! E aos “novos primos” Gleicy, Lucas, Caio e Igor pelo carinho, risadas, conversas, conversas e mais conversas!

À Larissa Ávila pela força e amizade que ultrapassa a vet 99. A “mana” Larissa Zoccal por ser o presente que você é! E a Meike Bouwhuis, Nora e Gerry Deegan, Verónica Maillo, Julia Filg e Marine Goron pelos melhores momentos em Celbridge e Dublin.

Aos Professores Juliana Peiró, Luiz Cláudio Mendes e Fabiano Cadioli e aos Médicos Veterinários Arthur Araújo, Jefferson Alcindo e Mariana Jeronymo por toda a ajuda e contribuição que precisamos quando as bezerras ficaram doentes. Muito obrigada!

A todos que de alguma forma contribuíram para a execução desse trabalho.

E principalmente as bezerras, que suportaram tudo sem entender nada.....

Muito obrigada a todos!

LISTA DE ABREVIações

°C: graus Celsius

% MS: porcentagem de matéria seca

μL: microlitro

μIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro

AGCC: ácidos graxos de cadeia curta

CV: coeficiente de variação

E₂: estradiol

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético

EE: estrato etéreo

EPM: erro padrão da média

FB: fibra bruta

FDA: fibra em detergente ácido

FSH: hormônio folículo estimulante

g: gramas

GnRH: hormônio liberador de gonadotrofina

IATF: inseminação artificial em tempo fixo

IGF-I: fator de crescimento semelhante a insulina – tipo I

Kg: kilogramas

LH: hormônio luteinizante

MM: matéria mineral

NDT: nitrogênio digestíveis totais

ng/mL: nanograma por mililitro

NNP: nitrogênio não proteico

NPY: neuropeptídeo Y

OPG: ovos por gramas de fezes

p.v.: peso vivo

P4: progesterona

PB: proteína bruta

RIA: radioimunoensaio

RPM: rotações por minuto

SAS: statistical analysis system

vs: versus

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1- Participação dos ingredientes (% MS) e composição bromatológica das dietas experimentais utilizadas após a desmama.....	42
Tabela 2- Características (média±EPM) das ondas foliculares em novilhas Nelore pré-púberes (desmamadas no 5 ^o mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6), no 2 ^o , 4 ^o , 6 ^o , 9 ^o , 12 ^o e 15 ^o mês de vida, durante os períodos de avaliação por 17 dias consecutivos.....	83
Tabela 3- Medidas descritivas do peso (kg; média±EPM) ao nascimento, à desmama, à puberdade, média do ganho de peso diário do nascimento à desmama e da desmama à puberdade, mensurado a cada sete dias, e idade à desmama e à puberdade em novilhas da raça Nelore recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6).....	89

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1- (a) Forma de contenção das bezerras com 18 dias de vida para acompanhamento com ultrassom dos ovários e útero de bezerras Nelore com o uso do (b) suporte do transdutor do ultrassom, desenvolvido e confeccionado em inox especificamente para este experimento.....	45
FIGURA 2- Contenção das bezerras Nelore para o acompanhamento dos ovários com ultrassom ao mesmo tempo em que as vacas também eram examinadas para outro experimento.....	46
FIGURA 3- Organograma do experimento.....	48
FIGURA 4- Variação na concentração de insulina plasmática ($\mu\text{IU/mL}$; média \pm EPM) em bezerras da raça Nelore (n=16) em função da idade em dias. As amostras foram colhidas diariamente do nascimento ao 7º dia de vida.....	52
FIGURA 5- Variação nas concentrações de cortisol, leptina, FSH, LH e P4 plasmáticas (ng/mL; média \pm EPM) em bezerras da raça Nelore (n=16) em função da idade em dias. As amostras foram colhidas diariamente do nascimento ao 7º dia de vida.....	53
FIGURA 6- Variação (média \pm EPM) do consumo de leite pós mamada controlada de 15 minutos em função da (a) idade em meses e (b) do peso vivo, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5º e o 6º mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8) e Controle (sem suplementação, n=8). As mamadas controladas foram realizadas após separação da vaca por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama.....	57

FIGURA 7- Correlação linear de Pearson positiva entre o ganho de peso percentual pós-mamada e o ganho percentual de peso vivo de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5^o e o 6^o mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8; r=0,40; p=0,0138) e Controle (sem suplementação, n=8; r=0,72; p<0,0001). As mamadas controladas foram realizadas após separação da vaca por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama..... 58

FIGURA 8- Variação no ganho de peso percentual (média±EPM) pós mamada controlada de 15 minutos em relação ao peso corporal em função da idade em meses (p<0,0001), de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5^o e o 6^o mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8) e Controle (sem suplementação, n=8). As mamadas controladas foram realizadas após separação da vaca por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama..... 59

FIGURA 9- Variação do peso (média±EPM) das vacas em função dos meses de lactação das bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5^o e o 6^o mês) do grupo Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8) e Controle (sem suplementação, n=8). As médias dos pesos das mães foram obtidas por mensurações a cada sete dias desde o nascimento das bezerras até a desmama..... 61

FIGURA 10- Correlação linear de Pearson negativa (r= -0,93; p= 0,0204) entre o consumo de leite e de suplemento de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5^o e o 6^o mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8) e Controle (sem suplementação, n=8). As mamadas controladas foram realizadas após jejum de 12 horas a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama..... 62

FIGURA 11- Variação na concentração de LH plasmático (ng/mL; média±EPM) em função da idade em meses, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de LH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até a desmama e agrupadas em função da idade em meses..... 64

FIGURA 12- Variação na concentração de LH plasmática (ng/mL; média±EPM) em função da idade em dias, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de LH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até a desmama e agrupadas em função da idade em dias..... 65

FIGURA 13- Variação na concentração de FSH plasmático (ng/mL; média±EPM) em função da idade em meses, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de LH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida a desmama e agrupadas em função da idade em meses..... 66

FIGURA 14- Variação na concentração de FSH plasmática (ng/mL; média±EPM) em função da idade em dias, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de FSH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até a desmama e agrupadas em função da idade em dias..... 67

FIGURA 15- Correlação linear de Pearson entre o peso (kg) e a concentração plasmática de LH (ng/mL) de bezerras Nelore dos 15 dias de vida a desmama, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6; r=0,37; p=0,02) e Controle (sem suplementação, n=6; r=0,23; p=0,19)..... 69

FIGURA 16- Correlação linear de Pearson entre o peso (kg) e a concentração plasmática de FSH (ng/mL) de bezerras Nelore em função da idade em meses, dos 15 dias de vida a desmama, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6; r=0,36; p=0,0255) e Controle (sem suplementação, n=6; r=0,45; p=0,007)..... 69

FIGURA 17- Variação do diâmetro do maior folículo (mm; média±EPM) em função da idade em meses e dias, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias do diâmetro do maior folículo foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde os 15 dias de vida até os 19 meses e agrupadas em função da idade em meses..... 72

FIGURA 18- Variação do diâmetro do segundo maior folículo (mm; média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) suplementadas ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias do diâmetro do segundo maior folículo foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde os 15 dias de vida até os 19 meses e agrupadas em função da idade em meses..... 76

FIGURA 19- Variação do número total de folículos (média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). A média mensal do número total de folículos, mensurados a partir de 2 mm, foi obtidas de mensurações a cada quatro dias desde os 18 dias de vida até os 19 meses e agrupadas em função da idade em meses..... 78

FIGURA 20- Correlação linear de Pearson entre ($p < 0,0001$) (a) o diâmetro do maior folículo (mm), (b) o segundo maior folículo (mm) e (c) o número total de folículos e o peso (kg) de novilha Nelore em função da idade em meses, dos 15 dias de vida aos 19 meses, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6; $r = 0,95$; $r = 0,95$; $r = 0,91$) e Controle (sem suplementação, n=6; $r = 0,96$; $r = 0,90$; $r = 0,89$)..... 80

FIGURA 21- Diâmetro do folículo dominante (média±EPM) nas ondas foliculares em novilhas Nelore pré-púberes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6), no 2º, 4º, 6º, 9º, 12º e 15º mês de idade, durante os períodos de avaliação por 17 dias consecutivos..... 84

FIGURA 22- Fases de crescimento e regressão do folículo dominante (média±EPM) em novilhas Nelore pré-púberes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6), no 2º, 4º, 6º, 9º, 12º e 15º mês de idade, durante os períodos de avaliação por 17 dias consecutivos..... 85

FIGURA 23- Características descritivas do folículo dominante nas ondas foliculares (na fase do diestro) em novilhas Nelore após a primeira ovulação recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=5) e Controle (sem suplementação, n=1) aos 21 meses de idade..... 86

FIGURA 24- Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) em novilhas Nelore púberes (após a primeira ovulação) recebendo suplementação Tratado (suplementação com milho, n=5) aos 17,85 meses de idade..... 87

FIGURA 25- Concentração individual de progesterona plasmática (ng/mL) em novilhas Nelore púberes (após a primeira ovulação) recebendo suplementação Tratado (suplementação com milho, n=5) aos 17,85 meses de idade e Controle (sem suplementação, n=1) aos 20,1 meses de idade..... 88

FIGURA 26- Variação do peso (kg; média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias foram obtidas por pesagens semanais do nascimento aos 20 meses e agrupadas em função da idade em meses..... 91

FIGURA 27- Ganho percentual da média de peso em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias foram obtidas por pesagens semanais do nascimento aos 20 meses e agrupadas em função da idade em meses..... 92

FIGURA 28- Variação na concentração de leptina plasmática (ng/mL; média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As concentrações plasmáticas de leptina foram obtidas a partir de mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até os 17 meses e agrupadas em função da idade em meses..... 95

FIGURA 29- Correlação linear de Pearson entre a concentração plasmática de leptina (ng/mL) e o peso (kg) de novilhas Nelore em função da idade em meses, da desmama aos 17 meses, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6; r=0,96; p<0,0001) e Controle (sem suplementação, n=6; r=0,83; p=0,0005).....

MATURAÇÃO SEXUAL EM BEZERRAS NELORE COM SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar a concentração plasmática de gonadotrofinas, do nascimento até a desmama, e as características foliculares (diâmetro e número total dos folículos e ondas foliculares) além da concentração plasmática de leptina do nascimento até a primeira ovulação de bezerras da raça Nelore suplementadas com milho moído (1,5 a 2% p.v./animal/dia) do nascimento a primeira ovulação. Doze bezerras Nelore, nascidas com média de $33 \pm 3,08$ kg, foram alocadas em dois grupos: Tratado (GT; n=6; recebendo suplementação) e Controle (GC; n=6; sem suplementação). Após a desmama aos cinco meses, as novilhas dos dois grupos receberam a mesma dieta base e para as bezerras do GT foram adicionados 1,5 a 2% p.v./animal/dia de milho moído. A partir do 18^a dia de vida foi realizada a cada quatro dias até a primeira ovulação a avaliação dos ovários para características foliculares. E a cada dois meses, avaliações diárias durante 17 dias para acompanhar as ondas de crescimento folicular. Concomitantemente ao exame ovariano foram coletadas amostras de sangue venoso para quantificação das concentrações plasmáticas de LH, FSH, leptina e progesterona. A concentração plasmática de leptina foi maior no GT no 13^o, 14^o, 16^o e 17^o mês de vida. Cinco novilhas do GT ovularam aos $17,8 \pm 1,1$ meses e uma novilha do GC ovulou aos 20,1 meses de vida. Pode-se concluir que a suplementação com milho moído antecipou a idade a primeira ovulação e contribuiu para o aumento da concentração plasmática de leptina a partir de cinco meses antes da primeira ovulação.

Palavras-Chave: bovino, desmama, puberdade, ovário, gonadotrofina, leptina.

SEXUAL MATURATION IN NELORE CALVES WITH FOOD SUPPLEMENTATION

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the gonadotropins concentration from birth to weaning, follicular characteristics (diameter and total number of follicles and follicular waves) and plasma leptin from birth to first ovulation of Nelore heifers supplemented with ground corn (1.5- 2% body weight/animal/day). Twelve Nelore heifers, born with an average of 33 ± 3.08 kg, were divided into two groups: Treated (TG, n=6; receiving supplementation) and Control (CG, n = 6; without supplementation). After weaning, at five months, heifers in both groups received the same basal and the calves of the TG were added 1.5 to 2 % body weight / animal / day of ground corn. From the 18th day of life were performed ovarian evaluations in each every four days until the first ovulation to analyze the follicular characteristics. Additionally, were held every two months, daily evaluations for consecutive 17 days in order to monitoring the follicular waves. Concomitantly to ovarian evaluations were collected venous blood samples for plasma LH, FSH, leptin and progesterone quantification. The plasma concentration of leptin increased in TG at 13th, 14th, 16th and 17th month of life Five TG heifers ovulated at 17.8 ± 1.1 months and one CG heifer ovulated to 20.1 months. Based on these results it could be concluded that supplementation with ground corn anticipated age at first ovulation and increased plasma leptin from five months before the first ovulation.

Keywords: bovine, weaning, puberty, ovary, gonadotropin, leptin.

SUMÁRIO

	Página
I INTRODUÇÃO	23
II REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1 Importância da nutrição na reprodução em fêmeas bovinas	25
2.2 Maturação Sexual.....	29
2.2.1 Gonadotrofinas	31
2.2.2 Características foliculares.....	34
2.2.3 Leptina e peso	36
III HIPÓTESES.....	38
IV OBJETIVOS.....	39
V MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1 Local do Experimento, Animais e Tratamentos	39
5.2 Estimativa do consumo de leite	43
5.3 Monitoramento do peso vivo.....	43
5.4 Acompanhamento com o ultrassom	43
5.5 Coletas de sangue e ensaios hormonais.....	48
5.6 Análise estatística.....	51
VI RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
6.1 Primeira semana de vida	52
6.2 Estimativa do consumo de leite	56

6.3. Quantificação das gonadotrofinas plasmáticas do 15 ^o dia de vida a desmama	63
6.4 Características foliculares.....	71
6.4.1 Diâmetro maior e segundo maior folículo	71
6.4.2 Número total de folículos	77
6.4.3 Ondas foliculares	81
6.5 Peso e quantificação de leptina plasmática	89
CONCLUSÕES	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
REFERÊNCIAS.....	100

I INTRODUÇÃO

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

O rebanho brasileiro cresceu 6,5% entre 2008 a 2012 (IBGE, 2012) e as empresas brasileiras respondem hoje por mais da metade do mercado mundial de carne bovina, valorizando a importância econômica desta atividade ao país (ABIEC, 2013).

Um dos fatores limitantes para a alta eficiência reprodutiva de um rebanho é a idade à puberdade que, por sua vez, além de ser dependente de uma idade mínima, também está relacionada com genética, sanidade e nutrição (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

A baixa idade à puberdade das novilhas zebuínas é um fator que compromete a produtividade e é um ponto a ser considerado quando se busca maior rendimento desses animais. É difícil considerar normal uma novilha ter a primeira ovulação aos dois anos de idade e o primeiro parto depois dos 3 anos (NOGUEIRA, 2004).

Inadequada ingestão de energia e escore de condição corporal 2 (escore de 1 a 5) podem afetar negativamente a função reprodutiva. A primeira ovulação fértil em novilhas de corte pode ocorrer entre 5 e 24 meses de idade dependendo da raça, do nível nutricional, do desenvolvimento corporal, da estação do ano, de

fatores de manejo e dos tratamentos hormonais (MORAES et al., 2007; NOGUEIRA, 2004).

A melhora no nível nutricional proporciona um crescimento e desenvolvimento corporal mais rápido, antecipando a maturação sexual (NOGUEIRA, 2004). De acordo com Patterson et al. (1992) e Romano et al (2007) o aumento no fornecimento de energia ou proteína podem aumentar o peso e diminuir a idade à puberdade. Para O'Callaghan e Boland, (1999) a densidade de energia da dieta também adianta a puberdade, além de interferir no crescimento folicular, ovulação e no desenvolvimento embrionário.

Manejos para produzir novilhas de reposição concentram-se em conhecer os processos fisiológicos que determinam a primeira ovulação. A eficiência reprodutiva é a característica econômica mais importante num rebanho. Melhorias nutricionais visando redução da idade à puberdade contribuem para o aumento na vida reprodutiva do animal e conseqüentemente a produção de maior número de bezerros, com benefícios para toda a cadeia produtiva (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007).

Entre os fatores nutricionais responsáveis pela variação reprodutiva e início da puberdade estão a porcentagem de proteína bruta, a concentração de gordura e a densidade energética da dieta (O'CALLAGHAN & BOLAND, 1999). O aumento do nível de proteína na dieta pode estimular o processo da puberdade em função do aumento das concentrações plasmáticas de glicose e de colesterol (LALMAN et al., 1993). A densidade de energia da dieta parece ser um dos principais fatores envolvidos no crescimento folicular, ovulação e desenvolvimento embrionário (RIGOLON et al., 2009).

II REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, a maior parte da produção bovina de corte está fundamentada em sistemas de pastagens formadas por espécies do gênero *Brachiaria*, que por serem gramíneas tropicais, apresentam produção (quantitativa e qualitativa) distribuída em dois períodos distintos: estação chuvosa e quente e estação seca e fria (REIS et al., 2009). Nestas condições, durante a estação seca, o rebanho bovino alimenta-se de forragem de baixo valor nutritivo, oriunda do crescimento do período de primavera/verão, caracterizadas por um elevado teor de fibra indigerível e teores de proteína bruta inferiores ao nível crítico, 6 a 7% MS, limitando desta forma o seu consumo (REIS et al., 2005).

Sendo o desempenho animal obtido por meio da interação forragem disponível e exigências nutricionais, raramente a forragem consumida consegue atingir os níveis nutricionais suficientes para maximizar a capacidade produtiva do animal. Desta forma, no intuito de manter o desempenho animal em níveis satisfatórios, tem sido largamente utilizada a suplementação alimentar (BRITO et al., 2007), basicamente com duas linhas em relação às características dos nutrientes a serem fornecidos, podendo-se utilizar energia ou proteína (REIS et al., 2004).

Para bovinos de corte no Brasil, a idade à primeira cria é de 40 meses (NOGUEIRA, 2004) e isso pode ser atribuído à baixa qualidade das forragens tropicais que contribui para uma inadequada nutrição dos animais (PEREIRA, 2000).

2.1 Importância da nutrição na reprodução em fêmeas bovinas

Entre os fatores que influenciam a reprodução, a nutrição tem papel reconhecidamente importante por afetar diretamente aspectos fisiológicos e

desempenho reprodutivo na fêmea bovina (BAGLEY, 1993; HAWKINS et al., 1995; MAGGIONI et al., 2008).

A quantidade de alimento ingerido ou a fonte de energia fornecida para fêmeas de corte e leite afetam características do ciclo estral, como: duração, padrão de ondas foliculares, diâmetro do maior folículo e corpo lúteo e concentrações circulantes de hormônios esteroides (SARTORI et al., 2004). A restrição alimentar pode alterar padrões do ciclo estral e da ciclicidade por reduzir, entre outros parâmetros, concentrações sanguíneas de glicose e insulina (SARTORI; MOLLO, 2007). Alta ingestão alimentar, por sua vez, está relacionado a um metabolismo hepático elevado dos hormônios esteroides (SARTORI et al., 2004).

A densidade energética da dieta é o fator nutricional que, em curto prazo, provoca maiores alterações na reprodução (BERGFELD et al., 1994), porém a quantidade e tipo de proteína fornecida também tem relevante importância. Logo, para um bom aproveitamento tanto de energia quanto de proteína é importante que haja um correto balanceamento entre eles, além de sincronia na taxa de degradação entre as fontes de proteína e energia da dieta (SINCLAIR et al., 2000).

Nos ruminantes, o processo digestivo é um processo complexo, onde a maioria dos alimentos consumidos atua como um suplemento nutritivo para a microflora ruminal. Essa, por sua vez, é formada por bactérias, protozoários e fungos, que produzem energia e componentes proteicos que podem ser absorvidos ou digeridos. Alguns micro-organismos digerem carboidratos, como a celulose, e produzem ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o acetato, propionato e butirato. (BOLAND et al., 2001).

O ácido acético predomina em relação aos demais AGCC, podendo representar 50 a 85% do total, sendo pouco utilizado no fígado, com contribuição

substancial nos tecidos para produção de adenosina tri-fosfato e de acetil-CoA, o principal precursor de gordura. A proporção de ácido acético tende a cair em dietas de alto teor de concentrado e/ou lipídeos. Por sua vez, o ácido propiônico pode representar entre 10 e 25% do total de AGCC no rúmen, alcançando as maiores concentrações em dietas compostas com maior teor de concentrado, sendo o principal substrato energético usado pelos ruminantes e é quase totalmente encaminhado para o fígado pela circulação porta, onde serve de substrato para a síntese de glicose (BERGMAN, 1990).

Em dietas ricas em fibra, o acetato é produzido em maior quantidade, enquanto que em dietas a base de grãos o propionato predomina. O ácido butírico pode representar entre 3 e 15% do total de AGCC no rúmen, sendo intensamente convertido a β -hidroxibutirato, um importante corpo cetônico, utilizado para posterior produção de ácidos graxos no tecido adiposo e mamário. Os ácidos acético e butírico são utilizados eficientemente por animais em fase de terminação, mas não têm uma contribuição efetiva para o suprimento de glicose (NUSSIO et al., 2006).

A suplementação com dietas contendo alto nível de concentrado pode aumentar a relação propionato: acetato no rúmen (GASSER et al., 2006a,b,c) promovendo mudanças endócrinas, que subsequentemente influenciam no mecanismo regulador da puberdade, antecipando a primeira ovulação (BAGLEY, 1993).

Novilhas zebuínas alimentadas com alto teor de proteína degradável chegam à puberdade mais cedo e mais pesadas (PATTERSON et al., 1992). O mesmo encontrado por Oliveira et al. (2009), onde novilhas Nelore suplementadas com 22% PB e bioestimuladas tiveram redução da idade à puberdade.

De acordo com Kaur e Aurora (1995) um correto desenvolvimento folicular necessita da disponibilidade de concentrações adequadas de proteína. Dietas com concentrações insuficientes têm sido associadas ao atraso na ocorrência do primeiro estro, à diminuição da manifestação do estro, redução do índice de concepção ao primeiro serviço e morte embrionária. No caso de novilhas, a deficiência proteica provoca subdesenvolvimento dos ovários e do útero.

Segundo Bagley (1993) e Gasser et al. (2006a,b,c), o desmame prematuro associado a uma alimentação de boa qualidade favorece as novilhas de corte a atingirem a puberdade precocemente. Day e Anderson (1998) observaram que aproximadamente 50% das novilhas taurinas desmamadas entre o 3º e o 4º mês de vida e alimentadas com uma dieta com alta quantidade de carboidrato atingiram a puberdade aos sete meses de idade.

Bezerras da raça Holandesa suplementadas com alto teor proteico e energético nos primeiros meses de vida foram desmamadas e entraram na puberdade mais precocemente, com maior peso e altura quando comparadas ao grupo controle (DAVIS RINCKER et al., 2011).

Em novilhas de corte ($\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Simental) a combinação do desmame precoce e dieta contendo alta quantidade de concentrado (60% milho) induziu a puberdade antes dos 10 meses de idade. (GASSER et al., 2006b,c).

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

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

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

2.2 Maturação Sexual

Em mamíferos, o sistema reprodutivo é o último dos principais sistemas a amadurecer (PATTERSON et al., 1992). A puberdade pode ser caracterizada como o período de transição entre a imaturidade do período pós-natal (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007) e a maturidade sexual que culmina com a aquisição da capacidade reprodutiva permitindo a geração de descendentes (TERASAWA; FERNANDEZ, 2001).

A puberdade é um processo gradual de maturação que se inicia antes do nascimento e continua ao longo do período pré e peri-puberal (McDONALD, 2003), sendo definida pelo primeiro estro acompanhado de ovulação ou o início da ciclicidade reprodutiva (WILTBANK et al., 1969; NOGUEIRA, 2004; SCHILLO et al., 1992). Segundo Moran et al. (1989), a primeira ovulação em média ocorre entre 6^o e 24^o mês de idade dependendo da genética e dos fatores ambientais em que se encontram os animais (NOGUEIRA, 2004). Algumas raças da espécie *Bos taurus* iniciam a puberdade aos 6 meses (FORDE et al., 2011) enquanto raças da espécie *Bos indicus*, como a Nelore, são mais tardias e em média iniciam a atividade reprodutiva aos 24 meses (ROMANO et al., 2007).

A funcionalidade do eixo reprodutivo (hipotálamo-hipófise-gônadas) começa durante o período embrionário (EVANS et al., 2012). Os neurônios secretores

hipotalâmicos começam a aparecer por volta do 32º dia do período embrionário e a hipófise começa a secretar gonadotrofinas a partir da 10ª semana do período fetal (HUTSON et al., 1997).

Duas hipóteses são propostas para explicar os mecanismos neuroendócrinos envolvidos na maturação sexual, sendo estas denominadas gonadostática (HOHLWEG; DOHRN *apud* OJEDA; URBANSKI, 1994) e central aplicada para humanos e primatas (DONAVAN; VAN DER WERFF *apud* OJEDA e URBANSKI, 1994). Em roedores, ovelhas e bovinos, dentre outras espécies, o controle da maturação sexual segue os preceitos estabelecidos pela hipótese gonadostática; já para equinos e primatas, por exemplo, o início da puberdade ocorre através da liberação de fatores de crescimento e neurotransmissores secretados pelos neurônios e células da glia.

A hipótese gonadostática consiste na redução da sensibilidade hipotalâmica aos esteroides gonadais, principalmente ao 17β -estradiol (E_2), durante o período pré-púbere (HOHLWEG; DOHRN *apud* OJEDA; URBANSKI, 1994) devido à diminuição do número de receptores de E_2 no hipotálamo (DAY et al., 1987).

Em trabalho recente realizado por Walker et al. (2012) que avaliou o perfil de expressão gênica no hipotálamo de ratos do nascimento até a maturação sexual, observou-se que a redução na expressão dos receptores de E_2 na região pré-óptica (PO) e o aumento na área medial basal do hipotálamo (MBH) coincidiram com o início da atividade púbere dos animais. Os autores propuseram que a queda da expressão na área PO é importante para cessar a retroalimentação negativa do E_2 e a elevação na área MBH faz com que esse esteroide passe a exercer ação estimulatória no hipotálamo para a liberação dos picos pré-ovulatórios de LH.

No entanto, a ação dos estrógenos sobre os neurônios que secretam hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) ainda permanece desconhecida (MAYER et al., 2010). Estudos utilizando imunohistoquímica, com dupla marcação, para neurônios secretores de GnRH e ER em hipotálamos de mamíferos de diversas espécies demonstraram a existência de um grande número de ER no hipotálamo, porém não foi evidenciada a presença nos neurônios secretores de GnRH.

Além das modificações na sensibilidade do hipotálamo ao estradiol ocorrem alterações nas respostas a neurotransmissores estimulatórios e inibitórios, que dependem da idade e da disponibilidade de energia no meio interno (RAWLINGS, et al., 2003).

Associado a idade também há uma necessidade de energia, glicose, insulina e leptina aumentando a sinalização para o hipotálamo que há um balanço energético favorável para o início da atividade reprodutiva (FOSTER; NAGATANI, 1999). Foi demonstrado para fêmeas bovinas que a leptina pode ser um sinalizador importante para a aquisição da puberdade (ZIEBA et al., 2003), ativando mecanismos hipotalâmicos e aumentando o número de picos de secreção de LH (GARCIA et al., 2002).

2.2.1 Gonadotrofinas

Durante o processo pós-natal de contenção da atividade gonadal nas novilhas pré-púberes há um aumento na concentração de LH entre dois e cinco meses de idade em função de um aumento na amplitude dos pulsos de secreção, sem uma explicação aparente. Este aumento repercutiu em um aumento no diâmetro do maior folículo e no número total de folículos, o que aparentemente

auxilia a organização da ciclicidade ovariana que se mantém durante a vida reprodutiva (ADAMS et al., 1994; EVANS et al., 1994b). O tratamento com gonadotrofina em dias alternados a partir do segundo mês de vida interferiu na foliculogênese, atrasou a primeira ovulação e diminuiu a produção de estradiol (EVANS; RAWLINGS, 1995), demonstrando que a variação sequencial na concentração de gonadotrofinas é essencial para que a maturação sexual ocorra normalmente.

As variações endócrinas que acontecem durante a maturação sexual de bezerras podem ser divididas em três períodos: o primeiro do nascimento à primeira semana onde os esteroides diminuem, observados também em potras por Nogueira et al. (1997), e as gonadotrofinas aumentam; o segundo período próximo ao primeiro mês quando há um aumento na concentração de LH e E₂, testosterona e inibina e o terceiro período que começa cinco semanas antes da primeira ovulação marcado por um aumento na concentração de E₂ e LH (NAKADA et al., 2000). Estas oscilações endócrinas determinam o padrão de crescimento dos folículos ovarianos (HONARAMOOZ et al., 2004).

Uma explicação para o aumento na concentração de gonadotrofinas entre 2^o e 5^o meses talvez seja uma alternância dos mecanismos moduladores da inibição do eixo hipotálamo hipófise-gônadas, já que Dodson et al. (1989) demonstraram que a elevação na concentração de gonadotrofinas após a castração é mais lenta em bezerras com duas semanas se comparada à bezerras de 6 ou 12 semanas de idade, sugerindo que o mecanismo gonadostático de bloqueio da secreção de gonadotrofinas deve se desenvolver entre 2 e 12 semanas de idade nas novilhas.

Durante a maturação sexual na novilha, existe a participação dos opióides atuando em conjunto com o estradiol regulando a secreção de gonadotrofinas

(EVANS et al., 1992). Com a proximidade da puberdade se desenvolve um efeito inibitório agudo e forte dos opióides endógenos, a supressão dessa inibição mostra que ela é acompanhada de um efeito estimulatório dos neurônios sobre a secreção de GnRH. A diminuição progressiva do efeito inibitório dos opióides ajusta o período em que ocorrerá a primeira ovulação. O efeito supressor dos opióides parece acontecer em parte através da inibição do sistema neuronal dopaminérgico ou pela inibição generalizada dos neurônios secretores de GnRH a outros estímulos excitatórios. Com a proximidade da ovulação os neurônios α -adrenérgicos também estimulam a secreção de GnRH mas não estão envolvidos na inibição opioidérgica da secreção de GnRH em bezerras pré-púberes (HONARAMOOZ et al., 2000).

Este período peri-puberal está associado com um aumento acentuado na concentração de LH (EVANS et al, 1994b; KINDER et al, 1995), enquanto a concentração de FSH permanece relativamente constante (EVANS et al, 1994a). Este aumento de LH é o resultado do aumento da frequência de pulso por causa de um declínio gradual na sensibilidade do hipotálamo a retroalimentação negativa de estradiol (EVANS et al, 1994b; KINDER et al, 1995).

Desta forma, a maturidade sexual se inicia após vários eventos neuroendócrinos, que resultam no início da produção e liberação pulsátil de LH pela adenohipófise. Isto é possível porque muito antes da puberdade, a novilha é capaz de produzir e liberar o FSH. A variação na frequência dos pulsos de GnRH interfere no tipo de gonadotrofina secretada pela hipófise alternando entre o FSH e o LH. Basicamente um aumento na frequência de pulsos de GnRH estimula a secreção de LH enquanto baixas frequências de pulsos permitem a secreção de FSH. Os esteroides podem agir diretamente na hipófise ou indiretamente no hipotálamo

alterando o padrão de pulsos de secreção de GnRH, com ação positiva ou negativa dependendo o estado fisiológico da fêmea (EVANS et al., 1995, SHUPNIK, 1996).

2.2.2 Características foliculares

O advento da ultrassonografia possibilitou a avaliação da atividade ovariana durante o ciclo estral em fêmeas adultas e é observado padrões de crescimento e regressão de folículos antrais em forma de ondas (GINTHER et al., 1989; PIERSON; GINTHER, 1984; SAVIO et al. 1988)

Uma onda de crescimento folicular em bovinos envolve o desenvolvimento de um grupo de folículos, sendo, um folículo de maior diâmetro e vários subordinados. Sucessivas ondas foliculares anovulatórios ocorrem até o momento em que o maior folículo torna-se o dominante e conseqüentemente o ovulatório (XU et al., 1995). As fases do desenvolvimento dos folículos dominantes e subordinados em uma onda são: fase de crescimento, estática e de regressão (GINTHER et al, 1989) e alterações nas concentrações plasmáticas de FSH são associadas a esse padrão de ondas (ADAMS et al., 1992).

Estudos em *Bos taurus* descreveram a ocorrência de duas a quatro ondas foliculares (GINTHER et al., 1989; KNOFF et al., 1989; SARTORI et al. 2004; TOWNSON et al. 2002) durante um ciclo estral e estudos com Nelore observaram ciclos com duas ou três ondas foliculares, havendo um predomínio de duas ondas nas vacas e de três ondas nas novilhas (FIGUEIREDO et al., 1997; SARTORI et al., 2010; SARTORI; BARROS, 2011).

Segundo Evans et al (1994b) bezerras Hereford com duas semanas de idade apresentaram o crescimento folicular em forma de onda e Adams et al. (1994) observou em novilhas jovens antes dos 8 meses de idade, e alterações na dinâmica

folicular foram evidentes a partir de 8 meses de idade à primeira ovulação (EVANS et al., 1994a).

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

O número de folículos aumentou entre 2ª e a 14ª semanas de idade, assim como o diâmetro máximo do maior folículo de cada onda (EVANS et al., 1994b). O diâmetro máximo do folículo aumentou entre 24 e 44 semanas de idade em bezerras taurinas (RAWLINGS et al., 2003).

Vários mecanismos pelos quais o aumento do nível de energia na dieta eleva o número de folículos parecem ser mediados por alterações nas concentrações plasmáticas de glicose, insulina e progesterona (O'CALLAGHAN & BOLAND, 1999).

A alimentação com dois níveis de energia determinou alterações na cronologia do desenvolvimento folicular ovariano. Novilhas que receberam elevada quantidade de energia resultaram folículos dominantes maiores quando comparados com novilhas que recebem menor quantidade, mas os folículos ovulatórios apresentaram o mesmo diâmetro, embora houvesse uma diferença na idade à primeira ovulação (BERGFELD et al., 1994; GASSER et al 2006a,b).

O aumento na secreção em pulsos de LH durante as ondas de crescimento folicular nos três últimos meses que antecede a puberdade permitem que aconteça um aumento no diâmetro folicular que produz estradiol suficiente para deflagrar o pico pré-ovulatório de gonadotrofinas (MELVIN et al., 1999).

Assim, para que as novilhas possam atingir a puberdade mais cedo, a nutrição adequada é importante. A restrição nutricional prolongada retarda o início da puberdade e prejudica a atividade cíclica de novilhas púberes por meio da supressão da liberação de LH em pulsos de elevada frequência, necessários ao crescimento dos folículos ovarianos até o estágio pré-ovulatório (YELICH et al., 1996; RAWLINGS et al., 2003).

2.2.3 Leptina e peso

Segundo NOGUEIRA (2004), para que a novilha zebuína possa expressar o potencial genético é necessário que disponha de alimentação adequada e bom manejo sanitário. A ingestão de uma dieta com alto nível de energia pode afetar a idade em que a puberdade é atingida sendo possível antecipá-la (ROMANO et al., 2007). O aumento da nutrição da fêmea no período pré-parto influencia de forma positiva o crescimento e a idade à puberdade das filhas. (PATTERSON et al., 1992).

Para que a primeira ovulação aconteça o peso é mais importante que a idade, uma vez que a nutrição inadequada atrasa a puberdade enquanto que o aumento da nutrição, associada a um rápido crescimento corporal, antecipa a maturação sexual (FOSTER;NAGATANI, 1999).

Os fatores que irão determinar o início do ciclo estral em novilhas são idade e quantidade de gordura corporal, pois a leptina secretada pelos adipócitos pode ativar mecanismos hipotalâmicos, aumentando o número de picos de secreção de LH (NOGUEIRA, 2004; KANE et al., 2004; GARCIA et al., 2002).

O ganho de peso da desmama à puberdade é um importante referencial. Alguns estudos observaram que a suplementação com alto teor de energia antecipa à idade a puberdade com um menor peso corporal (CARVALHO et al., 2013;

GASSER et al., 2006a). A restrição alimentar aos oito meses de idade aumentou a idade e diminuiu o peso à puberdade (BERGFELD et al., 1994). Novilhas Nelore que apresentaram maior peso aos 12 e 18 meses possuíam menor idade à puberdade (ALENCAR et al., 1987).

A reserva corporal de gordura pode influenciar o início do ciclo estral. A leptina, peptídeo secretado pelos adipócitos, que desempenha um papel na regulação do peso corporal e ingestão de alimentos (BOLAND et al., 2001) pode ativar mecanismos hipotalâmicos, aumentando o número de picos de secreção de LH. A deficiência nutricional em novilhas de corte suprime, no hipotálamo, a geração de picos de secreção de LH atrasando a primeira ovulação (SCHILLO et al., 1992; FOSTER e NAGATANI, 1999 ; RAWLINGS et al., 2003).

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

O peso do animal pode explicar uma série de variações associadas ao início da puberdade (GARCIA et al., 2002), tendo correlação com a concentração de leptina circulante (EHRARDT et al., 2000). Concentrações séricas de leptina aumentaram cerca de duas semanas antes da primeira ovulação, que marcou o início da puberdade em novilhas taurinas (DIAZ-TORGA et al., 2001; GARCIA et al., 2002).

O possível mecanismo pelo qual a leptina controla os processos reprodutivos envolve sua ligação aos neurônios β -endorfina que, por sua vez, influenciam os neurônios produtores de GnRH. Os neurônios β -endorfina também influenciam os

neuropeptídeos Y (NPY), que são envolvidos no controle da saciedade (ZAMORANO et al., 1997). Uma longa restrição alimentar leva à redução acentuada no escore da condição corporal e, conseqüentemente, das concentrações de leptina, promovendo a elevação dos valores do neuropeptídeo Y e, desta forma, diminuindo a secreção de GnRH hipotalâmico. Alguns estudos também revelam a ação da leptina nas células- β do pâncreas, estimulando a produção de insulina, em um mecanismo agudo de balanço energético positivo (RENTSCH; CHIESI, 1996).

Estudos evidenciaram que a leptina não é o fator desencadeante da puberdade e sim um fator permissivo, que possibilita a ocorrência da puberdade quando a maturação sexual é atingida, servindo como um sinalizador metabólico que pode regular a secreção de gonadotrofinas em resposta tanto à restrição energética crônica quanto à aguda (ZIEBA et al., 2004).

III HIPÓTESES

a) As bezerras e novilhas da raça Nelore suplementadas com milho apresentam maior concentração plasmática de hormônio luteinizante (LH) e leptina que as novilhas controle.

b) O desenvolvimento folicular (diâmetro e número de folículos) é aumentado em bezerras suplementadas com milho se comparadas com as controle.

c) A idade à primeira ovulação é antecipada nas novilhas Nelore suplementadas com milho.

d) A antecipação da idade a primeira ovulação está associada com o aumento no diâmetro do maior folículo e peso do animal no período pré-púbere.

IV OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação com milho moído nas bezerras da raça Nelore do nascimento até a primeira ovulação.

Objetivos específicos

Avaliar o efeito da suplementação com milho moído em bezerra da raça Nelore sobre:

- a. A variação na concentração de gonadotrofinas, do nascimento a desmama, entre os grupos;
- b. A concentração plasmática de leptina em função da idade;
- c. A variação nas ondas foliculares;
- d. A variação do diâmetro dos folículos desde o nascimento até a primeira ovulação.

V MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados com os animais nesse experimento estão de acordo com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, protocolo nº 0994/2011.

5.1 Local do Experimento, Animais e Tratamentos

O experimento foi conduzido nas dependências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista UNESP, Campus de Araçatuba-SP (50°26' de longitude Oeste e 21°12' de latitude Sul) no Setor Experimental do

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, no período de julho de 2011 a março de 2013.

Foram utilizadas 16 bezerras da raça Nelore (*Bos indicus*), filhas de novilhas Nelore, não selecionadas para precocidade sexual. Para obtenção das bezerras, as matrizes foram submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) realizados de setembro a novembro de 2010. Foi utilizado sêmen sexado para fêmeas, de touros (código na CRV Lagoa 2850; registro: MANA C2569 e código na CRV Lagoa 2770; registro: A 3346 - LA) não selecionados para precocidade sexual.

Após a realização de três protocolos consecutivos de IATF, 11 fêmeas não responderam aos protocolos e das 19 fêmeas que responderam, obtivemos 16 produtos fêmeas e três produtos machos.

As 16 bezerras nasceram entre os meses de junho a setembro de 2011, em um intervalo máximo de 90 dias de diferença.

No dia do nascimento as bezerras foram pesadas, identificadas com brinco e por três dias consecutivos foi realizado desinfecção do umbigo com antisséptico comercial. A média do peso das bezerras ao nascimento foi de $33 \pm 3,1$ kg.

Durante o experimento as bezerras foram vacinadas para clostridioses, brucelose e febre aftosa respeitando o calendário sanitário e a vermifugação foi realizada de acordo com a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) realizada individualmente a cada seis meses.

Do nascimento ao 15º dia de vida, as bezerras permaneceram em baias individuais com suas mães. Após esse período, as bezerras foram alocadas em confinamento comunitário separadas em dois grupos (Controle e Tratado) com oito animais cada e permaneceram com as mães até serem desmamadas, ou aos sete

meses de idade ou com 150 kg de peso vivo.

As vacas recebiam diariamente suplementação com ração comercial, PB 20,8% e NDT: 75,0% e bagaço de cana, tendo acesso livre ao sal mineral e a água.

As bezerras dos dois grupos tinham acesso ao cocho das mães, ao sal mineral *ad libitum* e a água. As bezerras do grupo tratado foram suplementadas em “creep feeding”, *ad libitum* (com controle diário do consumo do grupo), com ração pré-inicial (PB: 23,92% e NDT: 84,75%) adicionados a 2,5 a 3% p.v./animal/dia de milho moído e o grupo controle não recebeu suplementação.

Após a formação dos grupos iniciou-se o período de adaptação dos animais do grupo tratado à dieta por 30 dias, onde as bezerras aprenderam a comer em “creep feeding”.

As bezerras do grupo tratado foram desmamadas com $155,0 \pm 2,3$ kg aos $156 \pm 8,4$ dias de vida e as do grupo controle com $153,8 \pm 2,3$ kg aos $155,5 \pm 8,4$ dias de vida.

Após o desmame, a dieta de todas as bezerras foi formulada para fornecer a média entre 6 a 7% de proteína bruta para se assemelhar as condições médias das pastagens brasileiras (COSTA et al., 2007; NICODEMO et al., 2004; REIS et al., 2009).

A dieta dos dois grupos foi composta de bagaço de cana, polpa cítrica e ração comercial (PB: 44% e NDT: 70,71%). As bezerras do grupo tratado além da dieta base receberam a suplementação de 2,5 a 3% p.v./animal/dia de milho moído.

Como houve excesso de matéria seca na dieta do grupo tratado, os animais não consumiram a quantidade oferecida de 2,5 a 3 % p.v./animal/dia do milho moído e sim de 1,5 a 2% p.v./animal/dia (Tabela 1) até apresentarem a primeira ovulação,

onde o grupo tratado atingiu a puberdade com 535,6 dias aos 398,2 kg (5 animais) e o grupo controle com 605 dias aos 361 kg (1 animal).

Da desmama (5 meses) até o 8º mês de vida, três bezerras, duas do grupo tratado e uma do grupo controle foram a óbito (insuficiência cardiorrespiratória, choque séptico e choque endotoxêmico por enterite catarral) e seus dados não foram incluídos nas análises. Uma bezerra do grupo controle foi considerada “outlier” por não ter se desenvolvido como as outras, por apresentar o peso sempre inferior às demais, pelos ovários pequenos e por apresentar baixa contagem folicular e folículos pequenos. Dessa forma, cada grupo ficou composto por seis bezerras.

Tabela 1- Participação dos ingredientes (% MS) e composição bromatológica das dietas experimentais utilizadas após a desmama.

Ingredientes	Dietas	
	Tratado	Controle
Bagaço de cana de açúcar	48	72,72
Polpa cítrica	14,2	21,52
Ração comercial ^a	3,8	5,76
Milho moído	34	-
Total	100	100
	Composição	
Proteína Bruta (%)	12,51	7,81
Extrato Etéreo (%)	2,74	1,89
Matéria Mineral (%)	5,13	5,72
Fibra Bruta (%)	17,55	27,35
NDT (%)	66,49	56,96
ENN (%)	62,08	57,24
FDN (%)	29,95	35,91
FDA (%)	18,19	29,78
IEM (Mcal/kg)	2,93	2,51

^aComposição (kg): NDT=701,7g; PB=440g; NNP=130g; EE=30g; MM=15g; FB=200g; FDA=130g; Ca=20mg; P=3.000mg; Na=2.000mg; Cu=70mg; Co=5mg; Zn=100mg; Monensina=20mg; F=40mg.

5.2 Estimativa do consumo de leite

Para avaliar a influência da produção de leite das vacas no crescimento das bezerras a cada 30 dias, (do 1º ao 5º mês de vida) mensurou-se individualmente o consumo de leite. Para isso, as bezerras foram separadas de suas mães por 12 horas (das 18 horas às 6 horas) e na manhã seguinte foram pesadas em jejum de 12 horas, em balança digital (TK-2000, móvel, Toledo®) específica para tronco-balança, antes e após um período de mamada de 15 minutos, para uma referência individual da quantidade do leite ingerido.

5.3 Monitoramento do peso vivo

Durante o período de adaptação e durante todo o experimento, os animais foram pesados, sem jejum prévio, semanalmente em balança digital (TK-2000, móvel, Toledo®) específica para tronco-balança, para o acompanhamento e avaliação do ganho de peso mensal.

5.4 Acompanhamento com o ultrassom

O propósito inicial do trabalho foi realizar o exame ultrassonográfico ovariano a partir do 5º dia de vida, mas isso não foi possível, pois as bezerras não permaneciam em estação. Diariamente as bezerras foram colocadas no tronco na tentativa de conduzir o exame ovariano, mas apenas no 18º dia de vida as bezerras permaneceram em estação e o exame foi realizado ininterruptamente.

A partir do 18º dia de vida o exame ovariano pode ser conduzido ininterruptamente através de um aparelho de ultrassonografia GE Logiq α 100 equipado com transdutor linear transretal de 5 MHz. Foi necessária a utilização de

um “suporte do transdutor” confeccionado em aço inox, pois a palpação transretal não pode ser realizada (Figura 1). O esvaziamento do reto foi feito por estimulação digital da mucosa e em seguida 20 mL de carboximetilcelulose foram inseridos (com seringa de 20 mL) para dilatar a ampola retal e permitir melhor visualização da imagem.

Para o acompanhamento dos animais com o ultrassom, foi importante a técnica descrita por Nogueira e Ginther (2000) para exame do ovário de potras pré-púbere e adaptada para as bezerras da raça Nelore. As bezerras entravam primeiro no tronco de contenção e permaneciam de frente para as mães presas com o vazio preso na guilhotina dianteira de forma que ambas ficassem em contato. Com esse procedimento, a presença da mãe tranquilizava a bezerra e vice-versa permitindo a avaliação ultrassonográfica dos ovários das bezerras (Figura 2).



FIGURA 1- (a) Forma de contenção das bezerras com 18 dias de vida para acompanhamento com ultrassom dos ovários e útero de bezerras Nelore com o uso do (b) suporte do transdutor do ultrassom, desenvolvido e confeccionado em inox especificamente para este experimento.

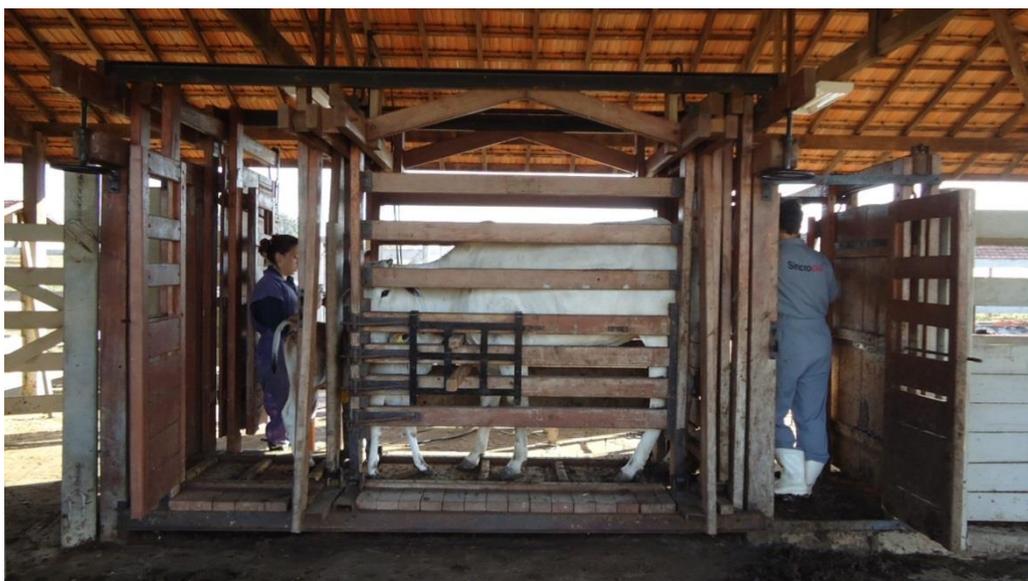


FIGURA 2- Contenção das bezerras Nelore para o acompanhamento dos ovários com ultrassom ao mesmo tempo em que as vacas também eram examinadas para outro experimento.

Após o desmame as bezerras já estavam condicionadas ao procedimento e permaneciam sozinhas para o exame ultrassonográfico. Quando atingiram oito meses a palpação transretal pode ser realizada e a contenção das bezerras foi feita com o método convencional no tronco de contenção.

Nos primeiros 30 dias o exame ultrassonográfico foi realizado diariamente para adaptação da técnica e condicionamento dos animais. Posteriormente, o acompanhamento com ultrassom foi realizado a cada quatro dias durante todo o experimento, para caracterização do diâmetro do folículo dominante, segundo maior folículo e número total de folículos. Houve também avaliações diárias por 17 dias a cada dois meses até a primeira ovulação para acompanhamento das ondas de crescimento folicular (duração da onda em dias, período de crescimento do folículo dominante e a fase estática do folículo dominante) durante o desenvolvimento sexual dos animais (Figura 3).

Segundo Ginther et al. (1989) e Evans et al. (1994a), a duração das ondas em dias foi definida como o número de dias a partir da emergência da onda (folículos de 3-4 mm) até a última mensuração do folículo com 3-4 mm de diâmetro, onde o folículo dominante atingiu pelo menos 6 mm de diâmetro durante dois dias consecutivos. O período de crescimento do folículo dominante foi definido como o número de dias a partir da emergência da onda até o dia em que o diâmetro máximo do folículo foi mensurado, ou seja, o dia em que o folículo dominante parou com seu aumento progressivo do diâmetro. E a fase estática foi definida como o período entre o final da fase de crescimento e o início da fase de regressão do folículo dominante.

Durante o experimento foram realizadas oito avaliações de 17 dias consecutivos (Figura 3). As avaliações foram feitas durante esse intervalo, para acompanhar a emergência de duas ondas foliculares consecutivas com descrito anteriormente (ADAMS et al., 1994; EVANS et al., 1994a,b; EVANS; RAWLINGS, 1995).

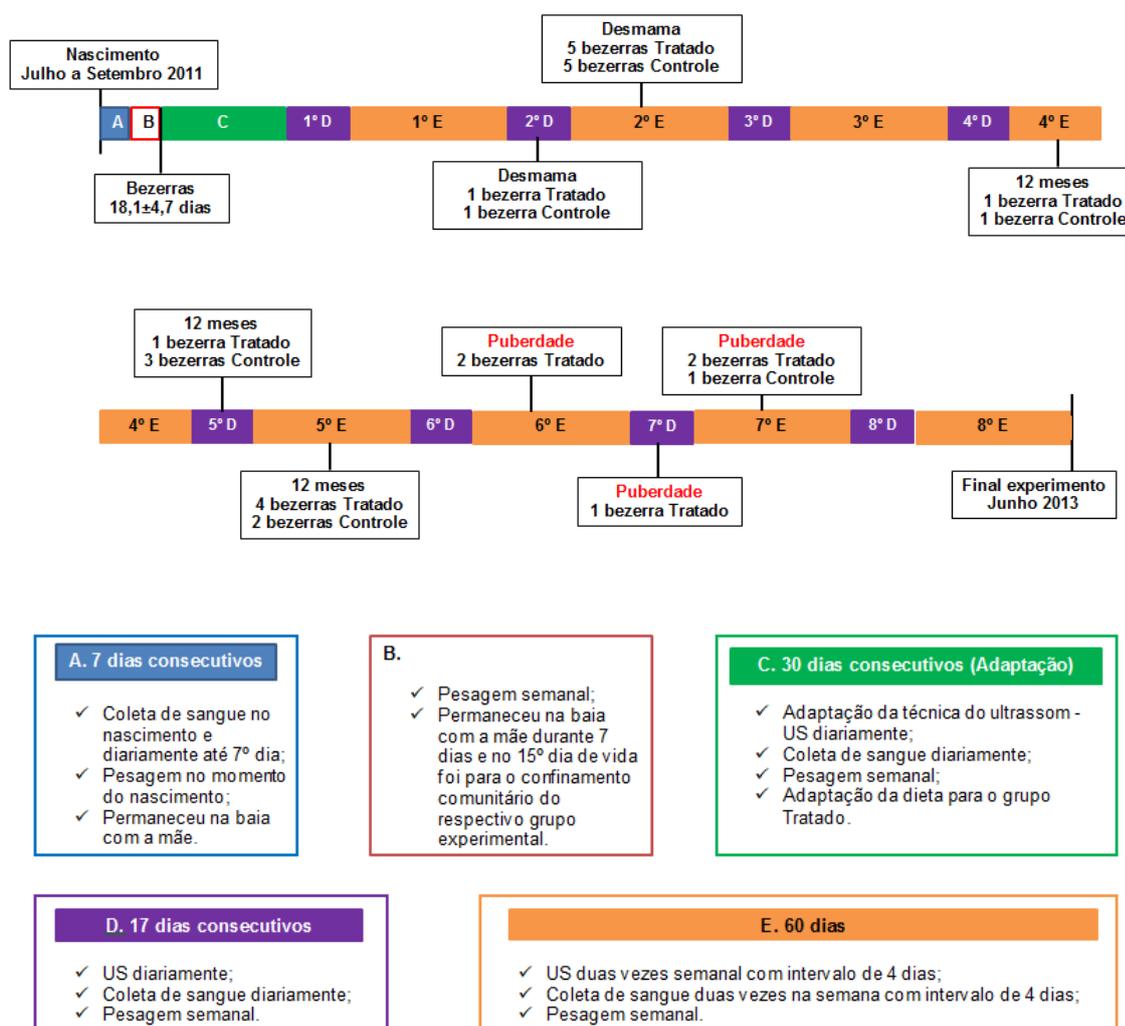


FIGURA 3- Organograma do experimento.

5.5 Coletas de sangue e ensaios hormonais

Para a quantificação hormonal as amostras de sangue venoso foram colhidas em tubos a vácuo de vidro contendo 200 µL de EDTA a 10% e refrigerados a 4°C até a separação do plasma em centrífuga refrigerada (Cientec Modelo CT-5000R; 3500RPM por 10 minutos a 23°C) e as frações do plasma aliquotadas em duplicata em tubos de 2 ml (Axigen Scientific MCT-200B) e armazenadas em freezer a -20°C até a realização dos radioimunoensaios.

Durante a primeira semana de vida diariamente foram colhidas amostras de sangue venoso para quantificação de FSH, LH, P₄, leptina, insulina e cortisol. Posteriormente a partir do 15º dia vida, uma amostra de sangue venoso foi colhida, a cada quatro dias durante todo o experimento, e/ou diariamente por 17 dias a cada dois meses até à primeira ovulação (Figura 3).

Todas as quantificações hormonais foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), UNESP de Araçatuba.

As quantificações da progesterona, insulina e cortisol plasmáticos do nascimento ao sétimo dia foram feitas por (RIA) radioimunoensaio, com kit comercial Coat-a-Count® da Siemens (Coat-a-Count® progesterone, Cat. # TKPG 2; Coat-a-Count® insulin, Cat. # TKIN 2; Coat-a-Count® cortisol, Cat. # TKCO 2). No ensaio de progesterona o coeficiente de variação (CV) intraensaio foi de 12,59% para o controle alto (14,77 ng/mL), 0,35% para o controle baixo (0,43 ng/mL) e a sensibilidade do ensaio foi de 0,0044 ng/mL. No ensaio de insulina o CV intraensaio foi de 15,96% para o controle alto (298,112 µIU/mL) e 12,00% para o controle baixo (53,962 µIU/mL) e a sensibilidade do ensaio foi de 0,344 µIU/mL. No ensaio de cortisol o CV intraensaio foi de 2,76% para o controle alto (19,00 ng/mL) e 1,05% para o controle baixo (4,38 ng/mL) e a sensibilidade do ensaio foi de 0,472 ng/mL.

Os ensaios para quantificação do LH e FSH bovinos foram adaptados dos descritos por Bolt et al. (1990) e Bolt; Rollins, (1983) respectivamente.

Para a quantificação do LH plasmático utilizou-se RIA "in house". Foram realizados dois ensaios. No primeiro, contendo amostras do nascimento ao sétimo dia de vida, o CV intraensaio foi de 4,09% para o controle alto (1,99 ng/mL) e de 3,44% para o controle baixo (0,42 ng/mL); o CV inter-ensaio foi de 9,35% para o

controle alto e de 18,14% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,037 ng/mL. Para o segundo ensaio, contendo as amostras obtidas após a primeira semana de vida o CV intraensaio foi de 4,14% para o controle alto (1,79 ng/mL) e para o controle baixo 8,02% (0,59 ng/mL), CV inter-ensaio foi de 10,08% para o controle alto e 9,07% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,050 ng/mL.

Nos ensaios para quantificação de FSH plasmático (nascimento ao 7º dia e do 15º dia até a desmama) utilizou-se RIA “in house”. O CV intraensaio foi de 4,00% para o controle alto (5,20 ng/mL) e para o controle baixo 2,29% (1,12 ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 16,05% para o controle alto e 10,62% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,030 ng/mL.

Os ensaios para quantificação da leptina bovina foram realizados com kit comercial de radioimunoensaio Multi-species (Millipore, Cat. # XL-85K) e foram realizados dois ensaios. No primeiro, contendo amostras do nascimento ao sétimo dia de vida, o CV intraensaio foi de 7,64% para o controle alto (6,84 ng/mL) e 2,09% para o controle baixo (0,58 ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 21,14% para o controle alto e 12,00% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,229 ng/mL. Para o segundo ensaio, contendo as amostras obtidas após a primeira semana de vida o CV intraensaio foi de 12,03% para o controle alto (19,49 ng/mL) e 1,75% para o controle baixo (4,31ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 13,77% para o controle alto e 15,50% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,379 ng/mL.

Após a primeira ovulação, para confirmar que a novilha atingiu a puberdade foi mensurada a concentração de progesterona plasmática. O critério utilizado por Honaramooz et al. (1999), Gasser et al. (2006c) e Nogueira et al.

(2003) foram concentrações plasmáticas de P4 superiores a 1,0 ng/mL após duas coletas semanais consecutivas. O CV intraensaio foi de 3,29% para o controle alto (24,47 ng/mL), 0,20% para o controle baixo (0,58 ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 3,46% para o controle alto e 17,88% para o controle baixo e a sensibilidade do ensaio foi de 0,042 ng/mL.

5.6 Análise estatística

A normalidade e homogeneidade da variância para todas as variáveis dependentes foram determinadas utilizando histogramas, qqplots e o procedimento UNIVARIADO do SAS. Quando heterogeneidade da variância foi detectada, os dados foram transformados elevando a variável a lambda, conforme determinado pela transformação de Box-Cox utilizando o procedimento TRANSREG do SAS. As concentrações plasmáticas de LH, FSH, leptina e características foliculares foram analisadas pela Análise de Variância com medidas repetidas no tempo, utilizando o procedimento Mixed do SAS. Os efeitos fixos incluídos no modelo foram o tratamento (Controle ou Tratado), dias de coleta e interação entre os grupos e dias. A idade em meses foi incluído como efeito repetido com estrutura de covariância auto-regressiva de primeira ordem, com ou sem variâncias heterogêneas, escolhidas pelo Critério de Informação de Akaike. Os testes de hipóteses foram realizados em dados transformados e as médias dos quadrados mínimos e erros-padrão apresentados refletem a análise dos dados não transformados.

VI RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Primeira semana de vida

Não houve diferença nas concentrações de insulina (Figura 4), leptina, FSH e LH (Figura 5) nos primeiros sete dias de vida das bezerras. A concentração plasmática de cortisol diminuiu do nascimento ao primeiro dia ($p < 0,0001$) e a concentração plasmática de progesterona (P4) diminuiu do nascimento ao segundo dia de vida ($p = 0,0004$) e não houve diferença entre os outros dias (Figura 5).

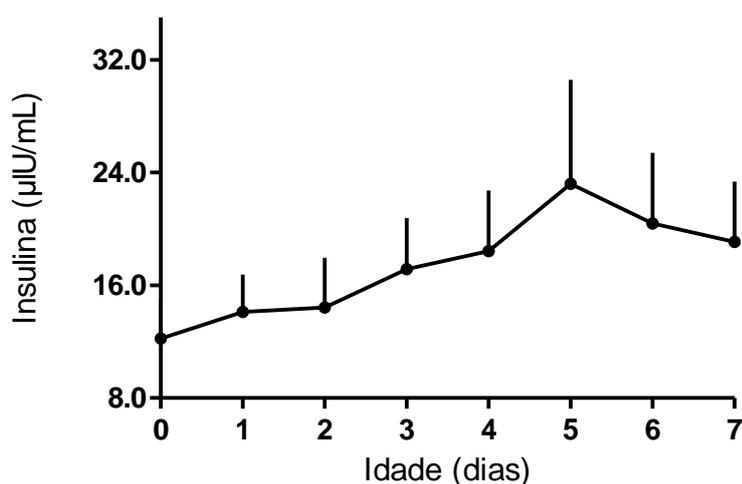


FIGURA 4- Variação na concentração de insulina plasmática ($\mu\text{IU/mL}$; média \pm EPM) em bezerras da raça Nelore ($n=16$) em função da idade em dias. As amostras foram colhidas diariamente do nascimento ao 7º dia de vida.

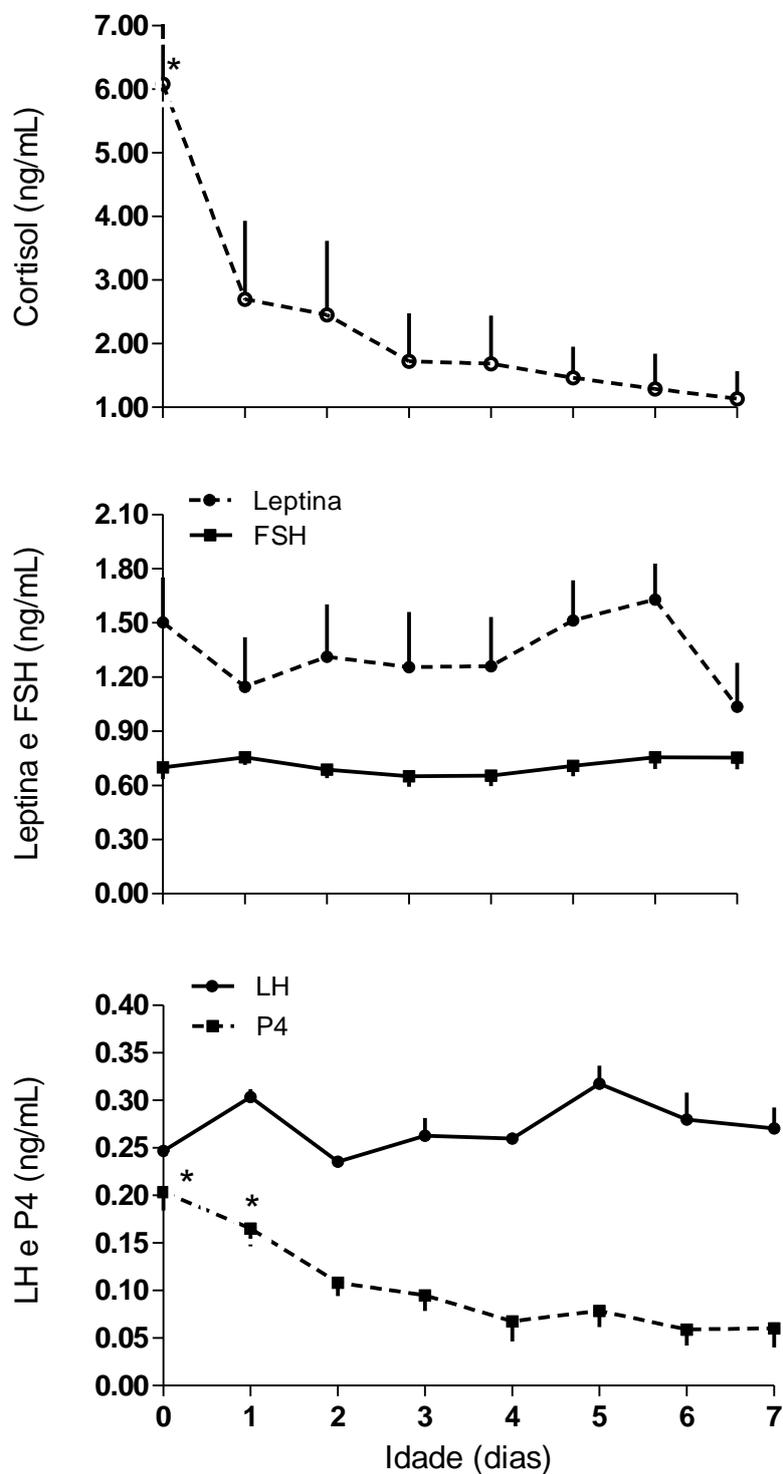


FIGURA 5- Variação nas concentrações de cortisol, leptina, FSH, LH e P4 plasmáticas (ng/mL; média±EPM) em bezerras da raça Nelore (n=16) em função da idade em dias. As amostras foram colhidas diariamente do nascimento ao 7º dia de vida.

Nas bezerras da raça Nelore no período pós-natal imediato as concentrações de gonadotrofinas foram menores, em relação ao animal adulto, assim como as observadas em bezerras da raça Holandesa (KANEKO et al., 2001) e em bezerras cruzadas das raças $\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Holandesa antes do primeiro mês de vida (SCHILLO et al., 1982).

A concentração de leptina plasmática permaneceu constante nas bezerras da raça Nelore assim como relatado em bezerras da raça Holandesa nascidas a termo (BLUM et al., 2005), mas diferiram das concentrações de camundongos e ratos recém-nascidos, em que as concentrações são elevadas nas fases neonatal (KIESS et al., 1998). A gordura ingerida com o colostro pode influenciar os níveis plasmáticos de leptina dos recém-nascidos (Mc FADIN et al., 2002; OLIVER et al., 2002). Em bezerros pré-ruminantes e cordeiros as concentrações plasmáticas de leptina são influenciadas pela intensidade da alimentação e estão associadas mais com a taxa de acréscimo de gordura do que com a massa gorda (BLOCK et al., 2003; EHRHARDT et al., 2003). Assim, os níveis de leptina são regulados de forma diferente em animais jovens e velhos.

Na primeira semana de vida a concentração plasmática de insulina de amostras colhidas de manhã, não variou. Foi relatado que a diminuição da concentração plasmática de insulina pré-prandial e o aumento pós-prandial ficam mais evidentes com o avançar da idade (BLUM; HAMMON 1999; BLUM; HAMMON, 2000; ZANKER et al., 2001). A elevação pós-prandial da concentração de insulina foi maior quando os bezerros foram alimentados logo após o nascimento (0 ± 2 horas) do que bezerros alimentados um dia (24 ± 25 horas) após o nascimento, e os

níveis de insulina em bezerros recém-nascidos diminuem rapidamente durante a restrição alimentar (HADORN et al. 1997; KINSBERGEN et al, 1994).

A concentração plasmática de cortisol apresentou maior valor no dia do nascimento, diminuindo no primeiro dia de vida e permanecendo constante nos outros dias. Essa condição foi observada em bezerros da raça Holandesa tanto machos quanto fêmeas (PAIVA et al., 2006) e também em bezerros da raça Nelore (GASPARELLI et al., 2009). Em potros recém-nascidos foram observado altas concentrações plasmáticas de cortisol nas primeiras horas após o nascimento provavelmente resultado do aumento da atividade adrenal antes do parto (SILVER et al., 1984).

Após o nascimento, a sobrevivência do recém-nascido depende de intensas mudanças nos padrões respiratório e circulatório (PLADYS et al., 2008) que resultaram em aumento na concentração de cortisol. O processo adaptativo ao meio extrauterino é estressante e dependente da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, sendo mediado principalmente pelo cortisol, potente estimulador do metabolismo (WOOD, 1999). Fatores estressantes como a hipóxia, mudanças na pressão sanguínea e indisponibilidade de glicose, podem levar ao aumento na secreção de cortisol pelo feto (BESSER & GAY, 1994).

A concentração plasmática de progesterona apresentou maior valor no dia do nascimento (NOGUEIRA et al., 1997) e no primeiro dia de vida ($p=0,0004$), sendo esta de origem placentária (SCHULER et al., 2008) e a partir do segundo dia de vida a concentração foi decrescente em função da remoção da progesterona materna pelo clearance hepático. Apesar da concentração da progesterona diminuir a concentração de LH não aumentou, aparentemente o eixo hipotálamo-hipófise não

responde à diminuição da concentração de progesterona no período periparto imediato.

6.2 Estimativa do consumo de leite

Após as restrições de mamada por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) nos cinco primeiros meses de vida, não houve diferença no consumo de leite das bezerras do grupo tratado em comparação às bezerras do grupo controle (Figura 6a,b).

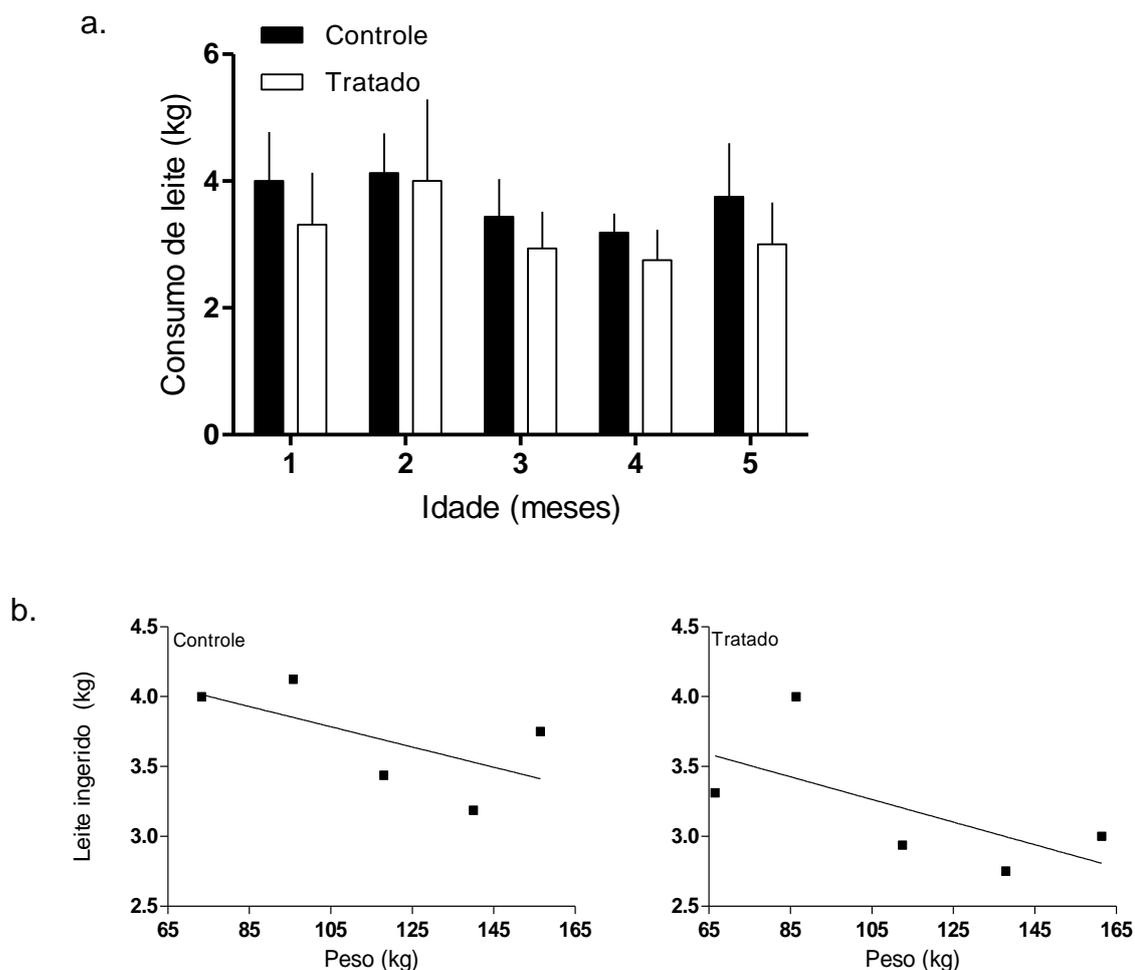


FIGURA 6- Variação (média±EPM) do consumo de leite pós mamada controlada de 15 minutos em função da (a) idade em meses e (b) do peso vivo, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5^o e o 6^o mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8) e Controle (sem suplementação, n=8). As mamadas controladas foram realizadas após separação da vaca por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama.

O ganho de peso percentual pós-mamada controlada das bezerras apresentou correlação positiva com o ganho percentual de peso vivo nos dois grupos, no grupo tratado $r=0,40$; $p=0,0138$ e no grupo controle $r=0,72$; $p<0,0001$ (Figura 7), apesar disso o ganho de peso pós-mamada decresceu nos dois grupos (Figura 8) em função da idade.

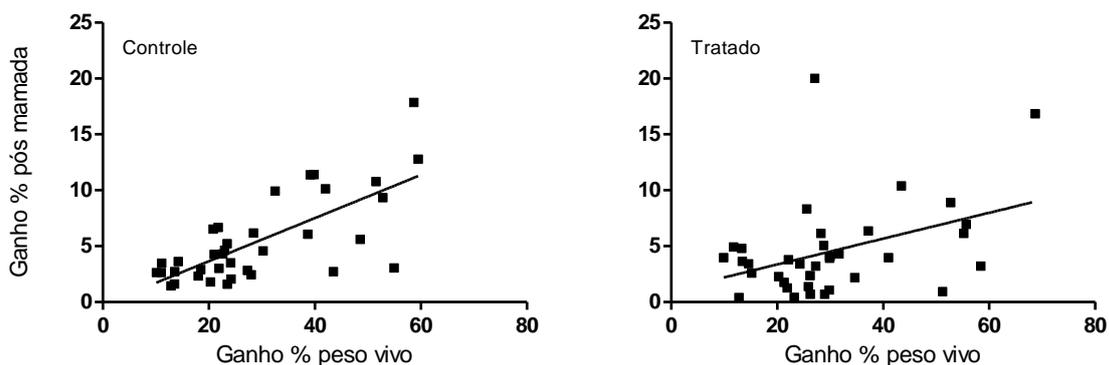


FIGURA 7- Correlação linear de Pearson positiva entre o ganho de peso percentual pós-mamada e o ganho percentual de peso vivo de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5º e o 6º mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, $n=8$; $r=0,40$; $p=0,0138$) e Controle (sem suplementação, $n=8$; $r=0,72$; $p<0,0001$). As mamadas controladas foram realizadas após separação da vaca por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama.

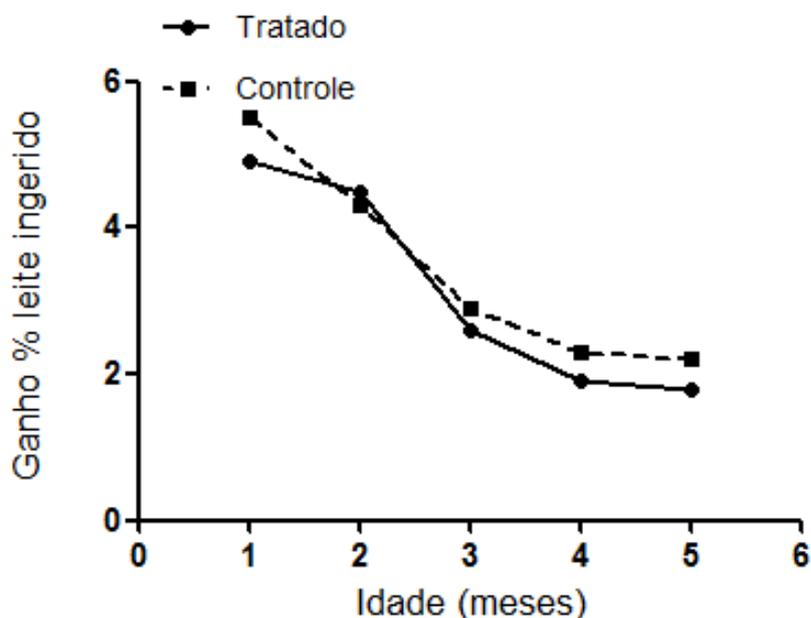


FIGURA 8- Variação no ganho de peso percentual (média±EPM) pós mamada controlada de 15 minutos em relação ao peso corporal em função da idade em meses ($p < 0,0001$), de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5º e o 6º mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, $n=8$) e Controle (sem suplementação, $n=8$). As mamadas controladas foram realizadas após separação da vaca por 12 horas (das 18:00 às 6:00 horas) a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama.

O maior consumo de leite, aparente, das bezerras do grupo controle em comparação as bezerras do grupo tratado sugere que as bezerras recebendo suplemento possam ter se tornado menos dependentes do leite e apresentaram o mesmo desempenho no peso, apesar de consumirem menor quantidade de leite.

Isso ocorreu provavelmente porque animais que receberam suplemento na forma de “creep-feeding” procuram menos suas mães (FORDYCE et al., 1996) e estimularam menos as vacas a produzir leite (NOGUEIRA et al., 2006). Desse modo, as bezerras do grupo controle compensaram a falta de suplemento com a

ingestão de maior quantidade de leite, e conseqüentemente, estimularam mais a produção de leite pela vaca.

Outra explicação para o maior consumo de leite das bezerras do grupo controle em relação ao grupo tratado foi a maior habilidade materna das vacas do grupo controle. Apesar de ter sido estipulado que as bezerras seriam desmamadas com 150 kg, numericamente, o percentual do peso da bezerra à desmama em relação ao peso da vaca foi maior no grupo controle em relação ao grupo tratado (41,8% vs 37,2%, respectivamente).

As mães das bezerras do grupo tratado por serem menos procuradas pelas filhas permaneceram mais pesadas durante o período da lactação (Figura 9) e apresentaram a primeira ovulação pós-parto antes das mães das bezerras do grupo controle.

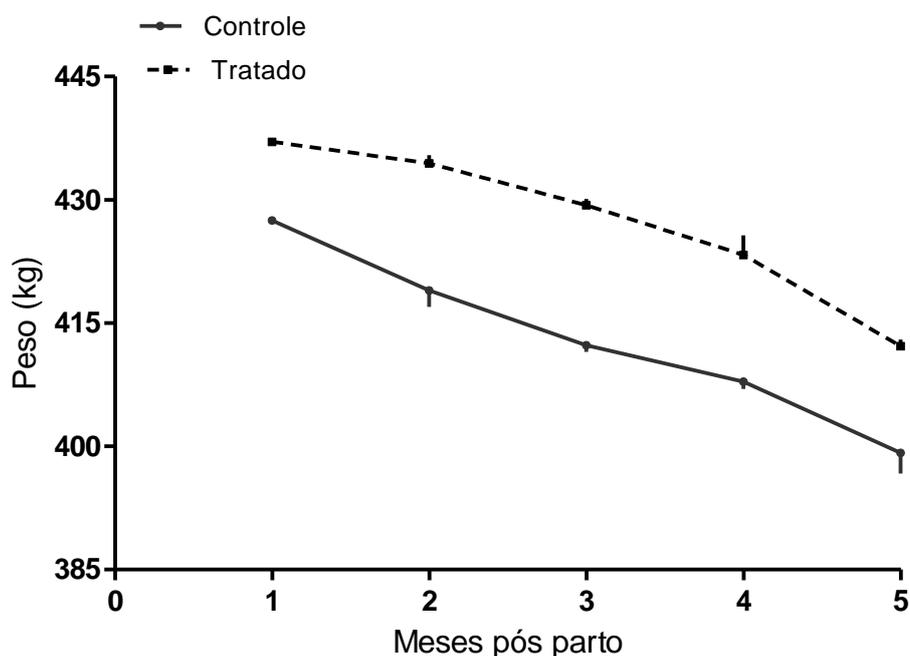


FIGURA 9- Variação do peso (média±EPM) das vacas em função dos meses de lactação das bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5º e o 6º mês) do grupo Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, n=8) e Controle (sem suplementação, n=8). As médias dos pesos das mães foram obtidas por mensurações a cada sete dias desde o nascimento das bezerras até a desmama.

Houve uma diminuição no ganho de peso pós-mamada controlada em função da idade nas bezerras dos dois grupos ($p < 0,0001$) isso coincidiu com a redução da produção de leite da vaca (PORTO et al., 2009) e/ou na diminuição natural da ingestão de leite pelas bezerras consequência do desenvolvimento funcional dos pré-estômagos (CARVALHO et al., 2003).

No decorrer dos meses as bezerras Nelore, do grupo tratado, aumentaram o consumo da suplementação oferecido no “creep-feeding”, no 1º mês consumiram 0,30 kg/animal/dia, no 2º mês 0,60 kg/animal/dia, no 3º mês 1,03 kg/animal/dia, no 4º mês 1,41 kg/animal/dia e no 5º mês 1,90 kg/animal/dia, apresentando correlação

negativa entre o consumo de leite e de suplemento, onde $r = -0,933$ e $p = 0,0204$ (Figura 10).

Entre o 3º e o 4º mês de idade, os compartimentos do trato digestório superior de bezerros apresentam proporções semelhantes ao de um animal adulto, com maior ingestão de alimentos sólidos e diminuição gradativa da ingestão de leite (CARVALHO et al., 2003).

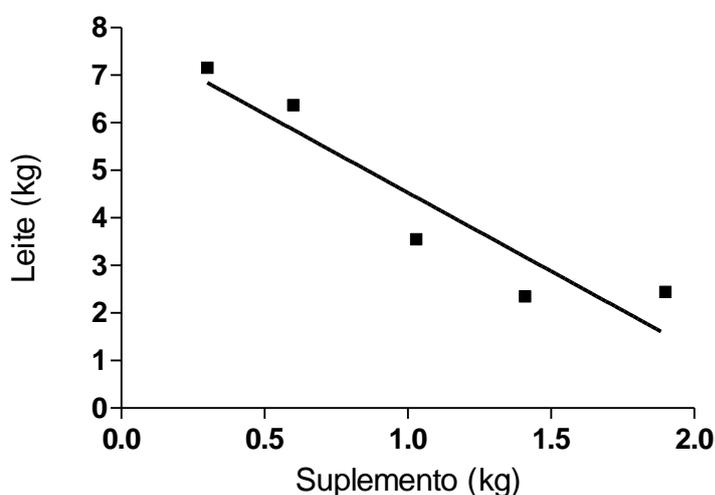


FIGURA 10- Correlação linear de Pearson negativa ($r = -0,93$; $p = 0,0204$) entre o consumo de leite e de suplemento de bezerras Nelore lactentes (desmamadas entre o 5º e o 6º mês) Tratado (suplementação com ração pré-inicial e milho, $n=8$) e Controle (sem suplementação, $n=8$). As mamadas controladas foram realizadas após jejum de 12 horas a cada 30 dias desde o primeiro mês de vida até a desmama.

A partir do 3º mês de idade, metade do consumo da energia requerida pelo bezerro provém da dieta sólida e a quantidade de leite requerida por unidade de ganho de peso diminui com a idade do bezerro Boggs et al. (1980). À medida que o bezerro cresce, sua dependência do leite materno vai diminuindo, sua capacidade

de pastar aumenta e, conseqüentemente, reduz a quantidade de leite ingerido (GOES et al., 2008).

6.3. Quantificação das gonadotrofinas plasmáticas do 15º dia de vida a desmama

Nesse intervalo do estudo, a concentração plasmática média de LH foi diferente ($p=0,002$) entre os grupos em função da idade. A concentração média do 1º ao 5º mês de vida foi maior ($p=0,045$) no grupo tratado ($0,44\pm 0,04$ ng/ml) quando comparada ao grupo controle ($0,35\pm 0,04$ ng/mL; Figura 11 e 12), as maiores concentrações médias mensais de LH foram encontradas no 2º, 4º e 5º mês de vida no grupo tratado quando comparado ao grupo controle ($0,44\pm 0,03$ vs $0,33\pm 0,03$ ng/mL, $0,50\pm 0,04$ vs $0,27\pm 0,04$ ng/mL e $0,40\pm 0,04$ vs $0,29\pm 0,04$ ng/mL respectivamente).

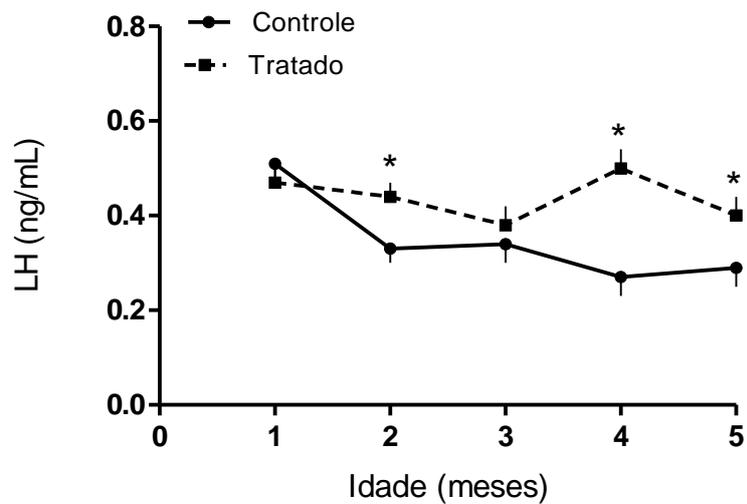


FIGURA 11- Variação na concentração de LH plasmático (ng/mL; média±EPM) em função da idade em meses, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5^o mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de LH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até a desmama e agrupadas em função da idade em meses.

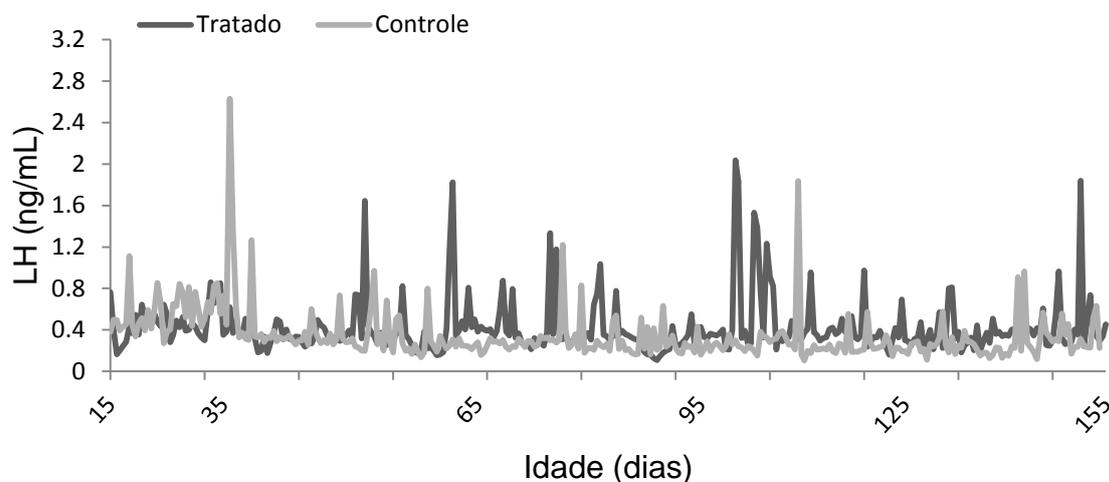


FIGURA 12- Variação na concentração de LH plasmática (ng/mL; média) em função da idade em dias, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de LH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até a desmama e agrupadas em função da idade em dias.

A concentração plasmática de LH em bezerras de corte taurinas foi relativamente baixa e estática após o nascimento em relação a 10ª semana de vida (DAY et al., 1987), ocorre um aumento gradativo na concentração de LH, até a 22ª semana (EVANS; RAWLINGS, 1995; EVANS et al., 1992).

Entre os 15 dias de vida e a desmama somente no 4º e 5º mês de vida foram encontradas maiores concentrações plasmáticas de FSH ($p=0,0001$) no grupo tratado quando comparado ao grupo controle ($1,10\pm0,06$ vs $0,80\pm0,06$ ng/mL e $1,09\pm0,06$ vs $0,85\pm0,07$ ng/mL respectivamente; Figura 13 e 14) coincidindo com relatos anteriores de que a concentração plasmática de FSH aumenta entre o 4º e o 6º mês (DAY et al., 1987; EVANS et al., 1992; SCHAMS et al., 1981). Provavelmente o aumento da nutrição exacerbou a elevação natural na

concentração de FSH no grupo tratado quando comparado ao controle. Esperávamos encontrar um aumento na concentração de FSH mais tardio nas novilhas Nelore por serem mais tardias que as taurinas, ainda faltam quantificações a serem feitas antes de comprovar esta hipótese.

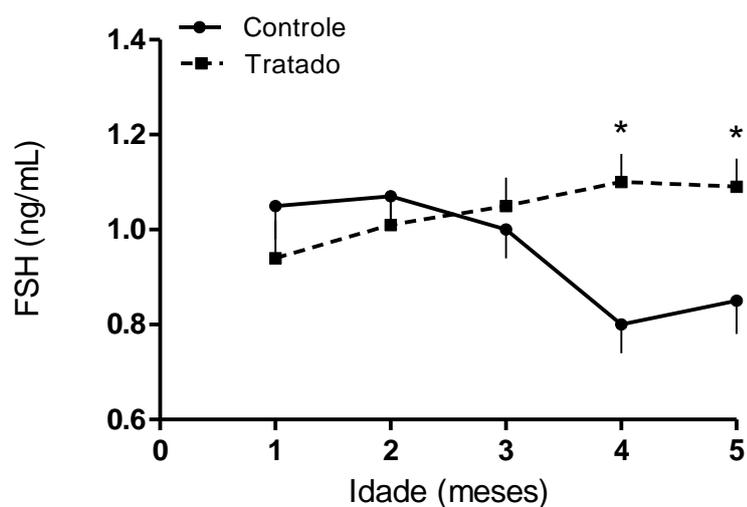


FIGURA 13- Variação na concentração de FSH plasmático (ng/mL; média±EPM) em função da idade em meses, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de LH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida a desmama e agrupadas em função da idade em meses.

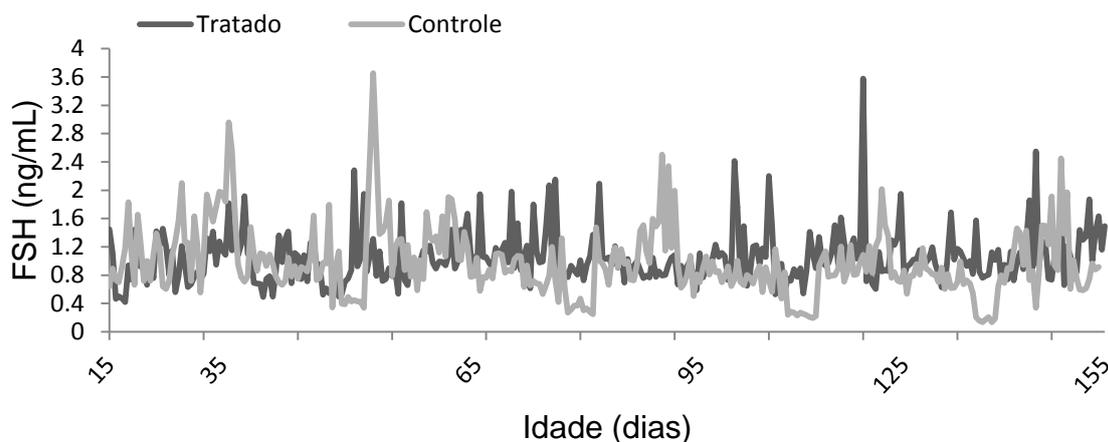


FIGURA 14- Variação na concentração de FSH plasmática (ng/mL; média) em função da idade em dias, de bezerras Nelore lactentes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias das concentrações plasmáticas de FSH foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até a desmama e agrupadas em função da idade em dias.

A média da concentração plasmática de FSH ($0,71 \pm 0,01$ ng/mL) na primeira semana de vida foi inferior às concentrações médias mensais de FSH até a desmama aos cinco meses nas bezerras dos dois grupos (tratado $1,09 \pm 0,06$ ng/ml e controle $0,85 \pm 0,07$ ng/mL). A média da concentração plasmática de LH na primeira semana foi inferior a todas as médias mensais das concentrações de LH das bezerras do grupo tratado e dos três primeiros meses das bezerras do grupo controle. Porém foi descritivamente semelhante ($0,27 \pm 0,06$ ng/mL) às concentrações de LH do 4º e 5º mês ($0,27 \pm 0,5$ e $0,29 \pm 0,4$ ng/mL) nas bezerras do grupo controle. Esses valores médios da primeira semana de vida mostram que ao nascimento já existe o mecanismo de retroalimentação negativa pelo estradiol (observado também em potras por NOGUEIRA et al., 1997).

No estudo feito por Evans et al. (1994b), as concentrações plasmáticas de LH e FSH foram elevadas entre a 2ª e 14ª semanas de idade, quando o número dos folículos e o diâmetro do maior folículo aumentaram.

Em bezerras de corte outros estudos mostraram que a concentração plasmática de LH e FSH foi baixa durante o primeiro mês após o nascimento, aumentou entre 3 e 4 meses de idade, e diminuiu aos 6 meses de idade (EVANS et al, 1992; MADGWICK et al., 2005; SCHAMS et al, 1981). No entanto, outros pesquisadores relataram que a concentração plasmática de LH e FSH diminuiu do nascimento até os 3 meses e meio de idade e, aumentou a partir dos 9 meses de idade (DODSON et al, 1988).

Em bezerras de corte ($\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Simental) a combinação do desmame precoce (73 dias), e a alimentação com alto nível de concentrado (60% milho) aumentou a frequência pulsátil de LH e o desenvolvimento folicular ovariano no período pré-puberal (GASSER et al., 2006a,b,c).

No presente estudo, dos 15 dias de vida a desmama a concentração plasmática de LH das bezerras Nelore apresentou correlação positiva com o peso corporal ($r=0,37$; $p=0,02$) no grupo tratado, mas não no grupo controle ($r=0,23$; $p=0,19$; Figura 15); a concentração plasmática de FSH das bezerras Nelore apresentou correlação positiva com o peso corporal no grupo tratado ($r=0,36$; $p=0,0255$) e no grupo controle ($r=0,45$; $p=0,007$; Figura 16).

Assim como Schillo et al (1992) e Evans et al (1994b), fica evidente que a maior ingestão de energia estimulou a secreção de GnRH que, aumentou a síntese e liberação de LH em novilhas. E esse aumento da secreção de gonadotrofinas em bezerras pré-púberes estimulou a atividade folicular, auxiliando na organização da ciclicidade ovariana.

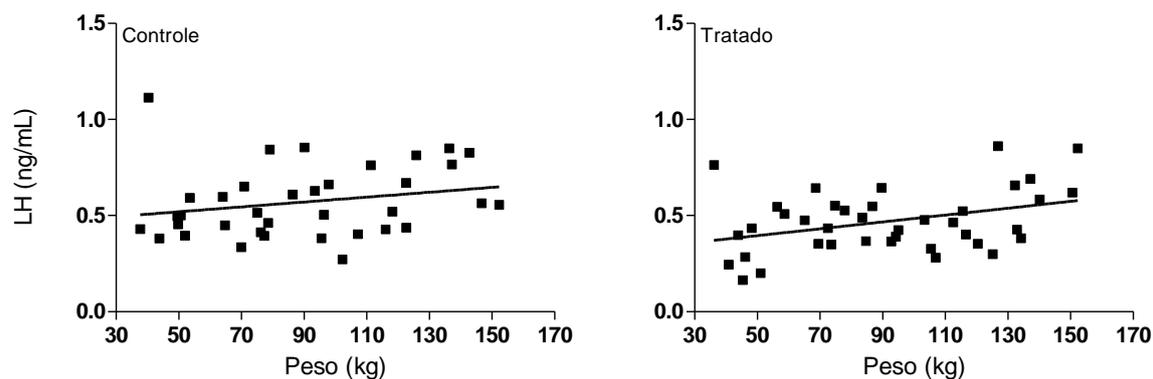


FIGURA 15- Correlação linear de Pearson entre o peso (kg) e a concentração plasmática de LH (ng/mL) de bezerras Nelore dos 15 dias de vida a desmama, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, $n=6$; $r=0,37$; $p=0,02$) e Controle (sem suplementação, $n=6$; $r=0,23$; $p=0,19$).

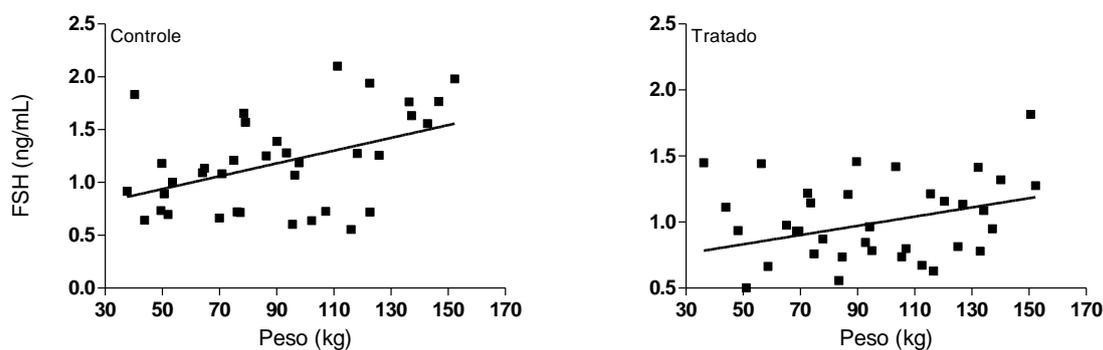


FIGURA 16- Correlação linear de Pearson entre o peso (kg) e a concentração plasmática de FSH (ng/mL) de bezerras Nelore em função da idade em meses, dos 15 dias de vida a desmama, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, $n=6$; $r=0,36$; $p=0,0255$) e Controle (sem suplementação, $n=6$; $r=0,45$; $p=0,007$).

Esse aumento inicial na secreção de gonadotrofinas, antes dos seis meses de idade em bezerras, pode ser um passo crítico no início do desenvolvimento sexual pós-natal (EVANS et al., 1992) e que pode estimular um aumento no número

de folículos do ovário, como descrito em estudos com bezerras e novilhas da raça Holandesa após abate. (DESJARDINS; HAFS, 1969; ERICKSON,1966). Entretanto no presente estudo não foi possível caracterizar bem a elevação na concentração de LH e FSH no período pré puberal, acreditamos que com a quantificação de gonadotrofinas dos meses posteriores à desmama haverá mais informação que permita complementar a discussão.

Diferindo com os resultados encontrados no presente experimento, Nogueira e Ginther (2000) observaram em potras uma diminuição das concentrações de gonadotrofinas após o 4^o mês e permanecendo baixa do 5^o aos 7^o mês durante o platô de atividade folicular, importante lembrar que nesta espécie o fator sazonal é importante, este período coincidiu com o período de foto período negativo, suprimindo a reprodução nesta espécie.

Aparentemente o sistema endócrino reprodutivo está funcional a partir do nascimento, libera LH pela hipófise anterior, o qual estimula a produção de 17β estradiol pelos folículos ovarianos (DAY et al., 1987; EVANS et al.,1992) e com a elevada sensibilidade negativa do hipotálamo ao estradiol impede que a bezerra ative o sistema reprodutor. Esta inibição é conhecida como excesso de retroalimentação negativa do estradiol que mantém baixa a secreção das gonadotrofinas até a reprogramação da sensibilidade hipotalâmica próximo à primeira ovulação (DAY et al., 1987; EVANS et al., 1994b).

6.4 Características foliculares

As cinco bezerras do grupo tratado que ovularam estavam com $535,6 \pm 33,7$ dias de idade, o que equivale a $17,8 \pm 1,1$ meses, sugerindo que a suplementação antecipou a primeira ovulação (CARVALHO et al., 2013) uma vez que a única novilha do grupo controle (sem suplementação) que ovulou estava com 605 dias de idade, o que equivale a 20,1 meses.

A única bezerra do grupo controle que ovulou sempre apresentou maior ganho de peso e maiores diâmetros de maior folículo em relação as outras bezerras do grupo, até atingir a puberdade.

Até o final do experimento em junho de 2013, uma novilha do grupo tratado, com 23 meses de idade, e cinco novilhas do grupo controle, duas com 24 meses, uma com 23 meses e duas com 22 meses de idade não ovularam, semelhante ao que foi relatado por Romano et al. (2007) e Souza et al. (1995) que a idade à puberdade nas novilhas zebuínas acontece no intervalo de 22 a 36 meses.

6.4.1 Diâmetro maior e segundo maior folículo

O diâmetro médio do maior folículo foi maior ($p < 0,0001$) nas bezerras do grupo tratado do que nas bezerras do grupo controle durante o experimento, como observado por Gasser et al. (2006b) e aumentou em função da idade nos dois grupos ($p < 0,0001$) coincidindo com relatos anteriores (BERGFEL, et al., 1994; CHELIKANI, et al., 2003; EVANS et al., 1994b; GASSER et al., 2006b; Figura 17).

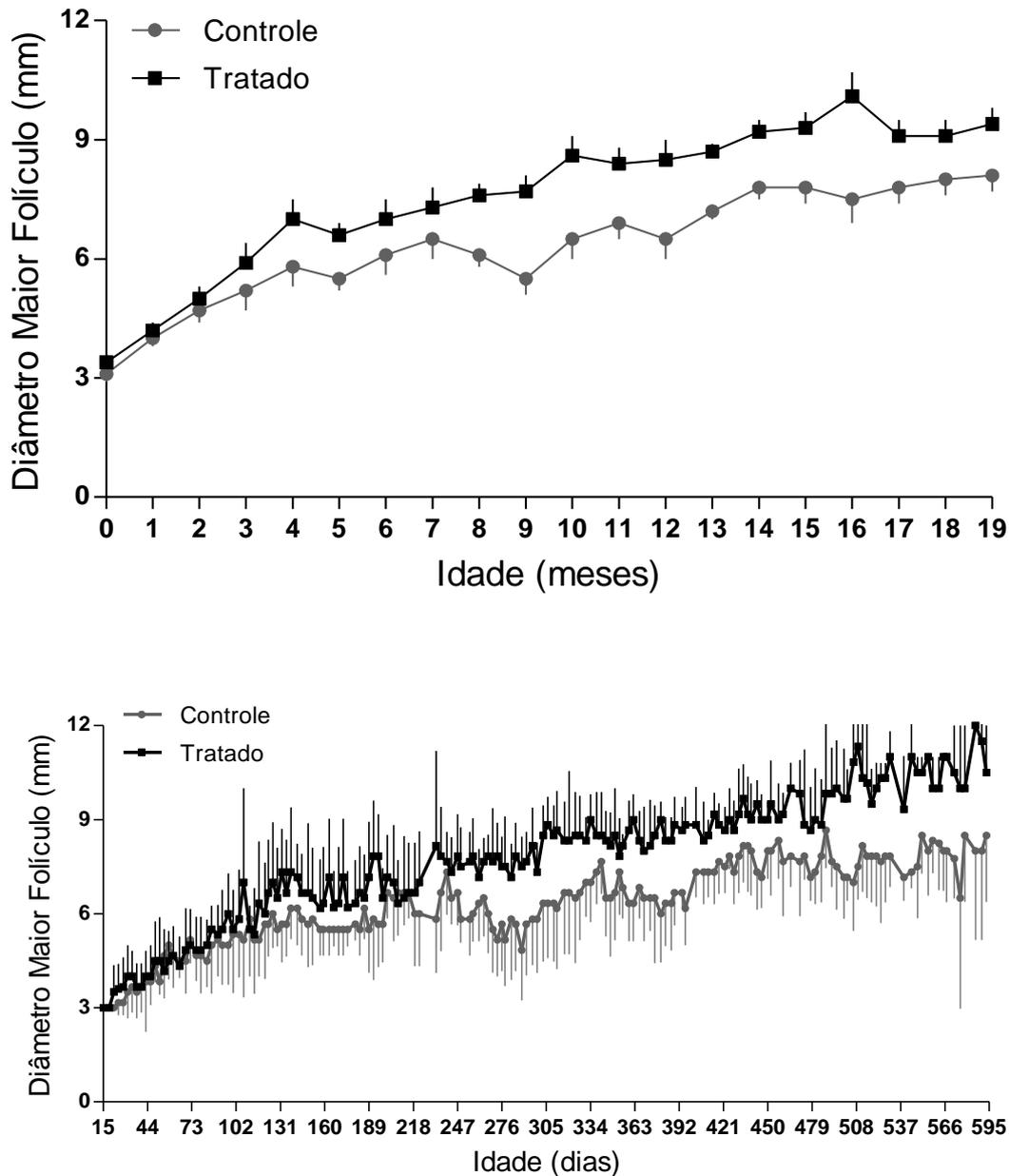


FIGURA 17- Variação do diâmetro do maior foliculo (mm; média±EPM) em função da idade em meses e dias, de novilhas Nelore (desmamadas no 5^o mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias do diâmetro do maior foliculo foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde os 15 dias de vida até os 19 meses e agrupadas em função da idade em meses.

O tamanho do maior folículo aumentou gradualmente ao longo do tempo e as bezerras do grupo tratado apresentaram diâmetros maiores que as controle. O aumento do diâmetro do maior folículo já foi observado em bezerras de corte ($\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Simental) suplementadas com milho em comparação às bezerras do grupo controle (GASSER et al., 2006b).

Em um mesmo contexto dieta com baixo teor energético diminuiu o diâmetro do folículo dominante em comparação às novilhas alimentadas com mais energia (BERGFELD et al., 1994).

A redução da nutrição pode interferir no crescimento folicular através de dois mecanismos, um efeito direto através da diminuição na concentração de IGF-I de origem hepática, de proteínas ligadoras e insulina, que diminuem a capacidade do folículo em responder ao LH e comprometem a produção de estradiol; e um efeito indireto que acontece pela redução da secreção pulsátil de LH por alteração no padrão de secreção de GnRH, determinado provavelmente pelo NPY, opióides bem como a concentração de glicose que parece controlar a secreção de GnRH (DISKIN et al., 2003).

No 16º mês de idade houve um maior diâmetro do maior folículo nas novilhas do grupo tratado quando comparadas as do grupo controle ($10,2 \pm 0,6$ vs $7,5 \pm 0,6$ mm respectivamente). O diâmetro do maior folículo aumenta com a proximidade da primeira ovulação (HONARAMOOZ et al., 2004). Em bezerras de corte de origem europeia (Hereford) que ovularam aos 13 meses o aumento no diâmetro folicular ocorreu entre 6 e 8,5 meses de idade (EVANS et al., 1994b). Fica evidente a influencia taurina, com idade a primeira ovulação menor resultando na diferença do período de ocorrência do aumento no diâmetro folicular. Na verdade os mecanismos

endócrinos relacionados à maturação sexual são os mesmos em novilhas taurinas e zebuínas, porém ocorrem tardiamente nas zebuínas (RODRIGUES et al., 2002).

As novilhas dos dois grupos desenvolveram próximo a primeira ovulação, folículos ovulatórios de diâmetro semelhante: $12,8 \pm 0,4$ mm no tratado e 12 mm na novilha do grupo controle, porém a ovulação das cinco novilhas do grupo tratado aconteceu 69 dias antes da única novilha do grupo controle. Efeito semelhante foi observado por Bergfeld et al. (1994), Chelikani et al. (2003) e Perry et al (1991), onde o diâmetro do maior folículo aos 11 meses permitiu prever a primeira ovulação até o 17^o mês de idade.

Os 69 dias de antecipação da primeira ovulação nas novilhas do grupo tratado pode garantir a prenhez da novilha na segunda estação de monta. Essa diferença pode significar um bezerro a mais por animal para o pecuarista.

O diâmetro do segundo maior folículo aumentou em função da idade nos dois grupos ($p < 0,0001$) e foi maior ($p = 0,0003$) nas bezerras do grupo tratado ($4,9 \pm 0,1$ mm) que nas bezerras do grupo controle ($4,1 \pm 0,1$ mm). Há relato de que o fornecimento de diferentes níveis de energia e proteína não interferiu no diâmetro do segundo maior folículo (CHELIKANI et al., 2003). O que interfere no diâmetro do segundo maior folículo é a concentração de FSH que sofre menor interferência da dieta que o LH (BERGFELD et al., 1994). A severidade da variação nutricional, bem como a sensibilidade da raça à restrição alimentar (provavelmente ligado à reserva energética) podem justificar a diferença entre os experimentos.

No 9^o e do 11^o ao 18^o mês de vida foram observados segundo maiores folículos com maior diâmetro nas novilhas do grupo tratado ($p = 0,0035$) quando comparadas as novilhas do grupo controle (resultado em milímetros: 9^o mês: $5,0 \pm 0,4$ vs $3,5 \pm 0,4$; 11^o mês: $5,6 \pm 0,4$ vs $3,9 \pm 0,4$; 12^o mês: $5,4 \pm 0,4$ vs $4,3 \pm 0,4$; 13^o

mês: $6,4 \pm 0,4$ vs $4,4 \pm 0,4$; 14^o mês: $6,3 \pm 0,4$ vs $5,1 \pm 0,4$; 15^o mês $6,9 \pm 0,5$ vs $5,0 \pm 0,5$; 16^o mês: $7,2 \pm 0,4$ vs $5,3 \pm 0,4$; 17^o mês: $6,6 \pm 0,5$ vs $5,2 \pm 0,5$; 18^o mês: $5,9 \pm 0,3$ vs $4,3 \pm 0,3$ respectivamente. Figura 18).

Em novilhas taurinas sob nutrição de manutenção, foi observado que o diâmetro do segundo maior folículo aumentou da 2^a a 14^a semana e depois permaneceu constante (EVANS et al., 1994b).

Semelhante ao diâmetro do maior folículo no 16^o mês de idade, mês que antecedeu a puberdade nas novilhas do grupo tratado, foi observado maior valor no diâmetro médio do segundo maior folículo das novilhas do grupo tratado quando comparadas com as do grupo controle.

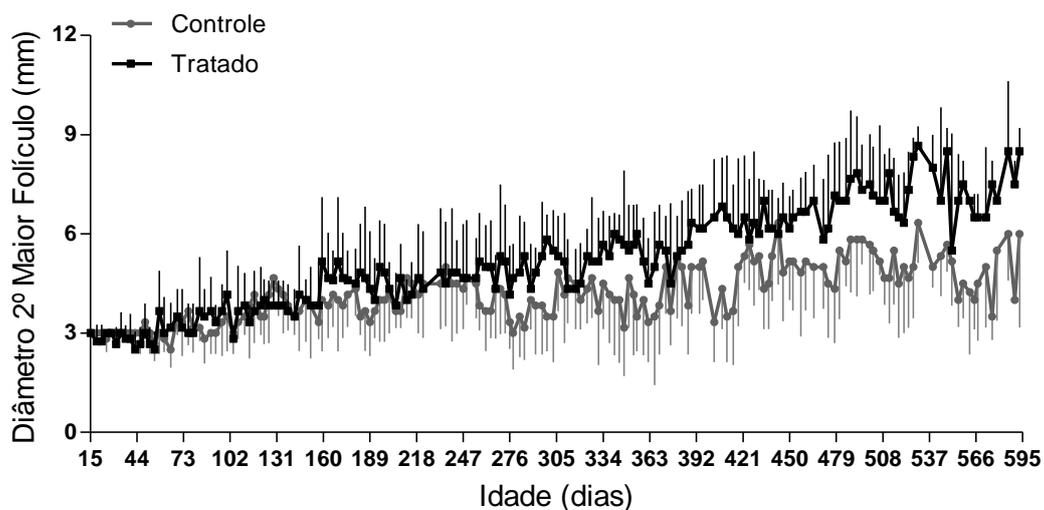
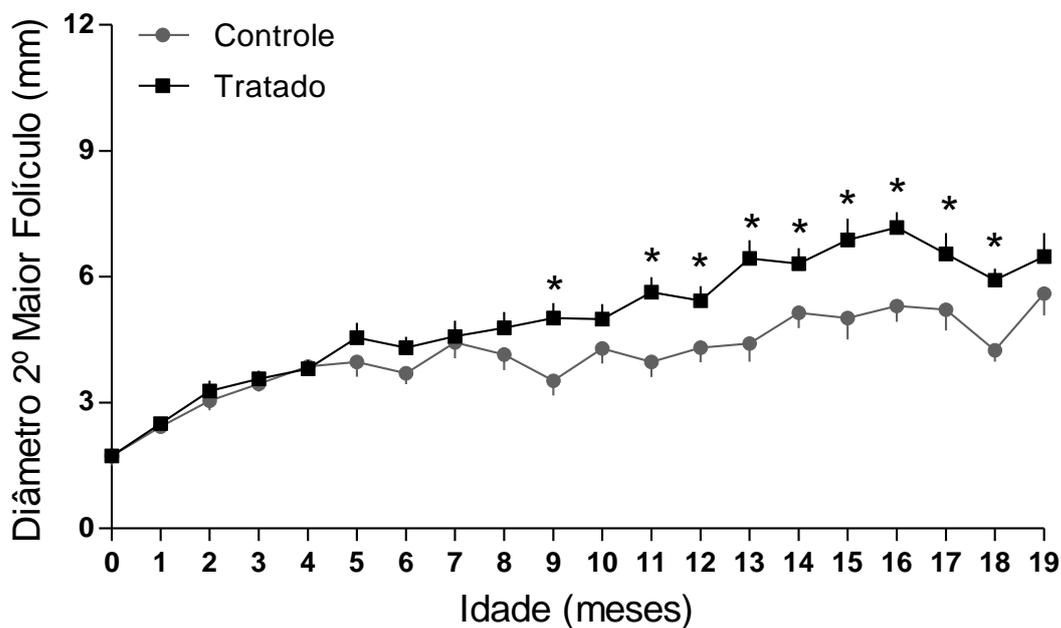


FIGURA 18- Variação do diâmetro do segundo maior folículo (mm; média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) suplementadas ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias do diâmetro do segundo maior folículo foram obtidas por mensurações a cada quatro dias desde os 15 dias de vida até os 19 meses e agrupadas em função da idade em meses.

6.4.2 Número total de folículos

O número total de folículos aumentou em função da idade ($p < 0,0001$), mas não houve diferença entre os dois grupos, as bezerras do grupo tratado apresentaram média de $35,49 \pm 0,72$ e as bezerras do grupo controle de $34,77 \pm 0,72$ folículos.

A reserva de folículos pré antrais pode ser maior nas fêmeas zebuínas quando comparadas com as taurinas (SILOTO, 2012), mas Silva-Santos et al (2011) verificaram que essa diferença não é significativa, apesar de haver grande variação individual no número de folículos pré antrais nas fêmeas zebuínas e taurinas e sugeriram haver diferenças nas taxas de atresia folicular entre as raças.

Nas fêmeas bovinas o número de folículos antrais é o reflexo do tamanho da reserva do ovário (IRELAND et al., 2008) e há evidências crescentes de que o tamanho dessa reserva de folículos no ovário pode ser influenciado negativamente pelo ambiente materno durante a gestação (MOSSA et al., 2009; SULLIVAN et al., 2009; EVANS et al., 2012).

Além disso, é interessante observar que a contagem média de folículos nos ovários de fêmeas *Bos taurus* pode estar entre 18 (IRELAND et al., 2007) a 24 (GINTHER et al., 1996) folículos, ao passo que em fêmeas *Bos indicus* pode ocorrer o dobro do número de folículos das fêmeas *Bos taurus* (GIMENES et al., 2009), os relatos de contagens de folículos antrais variam entre 40 (ALVAREZ et al., 2000) a 50 (BURATINI et al., 2000; SARTORI & BARROS, 2011).

Nos dois grupos, o número total de folículos aumentou entre o início do experimento aos 18 dias de vida e o 2º mês de vida, e diminuiu do 3º mês ao 5º mês de vida, (como observado por GASSER et al., 2006b), a partir do 6º mês até o 10º mês houve um aumento contínuo do número de folículos que permaneceu

constante e a partir do 10^o mês (como observado por DAY & ANDERSON, 1998; Figura 19).

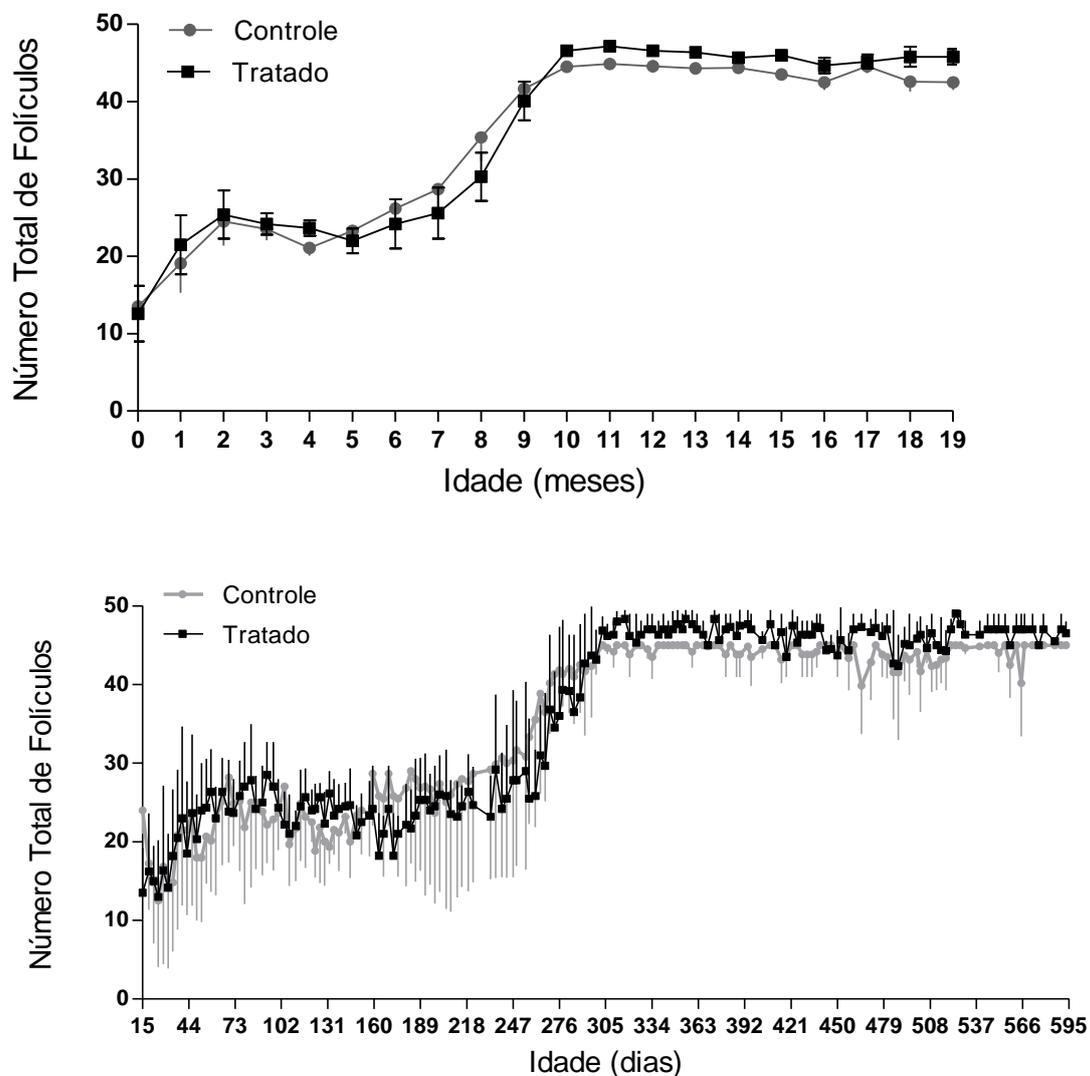


FIGURA 19- Variação do número total de folículos (média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5^o mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). A média mensal do número total de folículos, mensurados a partir de 2 mm, foi obtidas de mensurações a cada quatro dias desde os 18 dias de vida até os 19 meses e agrupadas em função da idade em meses.

O aumento progressivo do número de folículos nas novilhas Nelore foi semelhante aos resultados observados em novilhas taurinas (GASSER et al, 2006b) mas diferente de um outro estudo (ERICKSON, 1966) que relata diminuição no número de folículos após o 6º mês de vida.

A fase estática do número total de folículos iniciou por volta dos 10 meses de idade nos dois grupos sendo que as novilhas do grupo tratado ovularam sete meses e a do controle 10 meses, após o início dessa fase. Novilhas Hereford que iniciaram a fase estática aos 8 meses de idade ovularam após cinco meses (EVANS et al., 1994b), mas as novilhas zebuínas apesar de apresentarem maior número de folículos, atingiram a puberdade mais velhas.

Uma justificativa para o aumento na idade a puberdade em função do número de folículos pode ser o crescimento folicular em ondas semelhantes ao de fêmeas adultas (ADAMS et al., 1992; EVANS et al., 1994b; MELVIN et al., 1999). No presente estudo a suplementação nas novilhas do grupo tratado contribuiu para atingirem a puberdade 69 dias antes que a novilha do grupo controle e 37,2 kg mais pesadas.

No presente estudo, dos 15 dias de vida até os 19 meses o diâmetro do maior folículo, o segundo maior folículo e o número total de folículos das novilhas Nelore apresentaram correlação positiva com o peso corporal nos dois grupos ($p < 0,0001$), no grupo tratado apresentou $r=0,95$; $r= 0,95$; $r= 0,91$ e no grupo controle $r=0,96$; $r=0,90$; $r= 0,89$ (Figura 20).

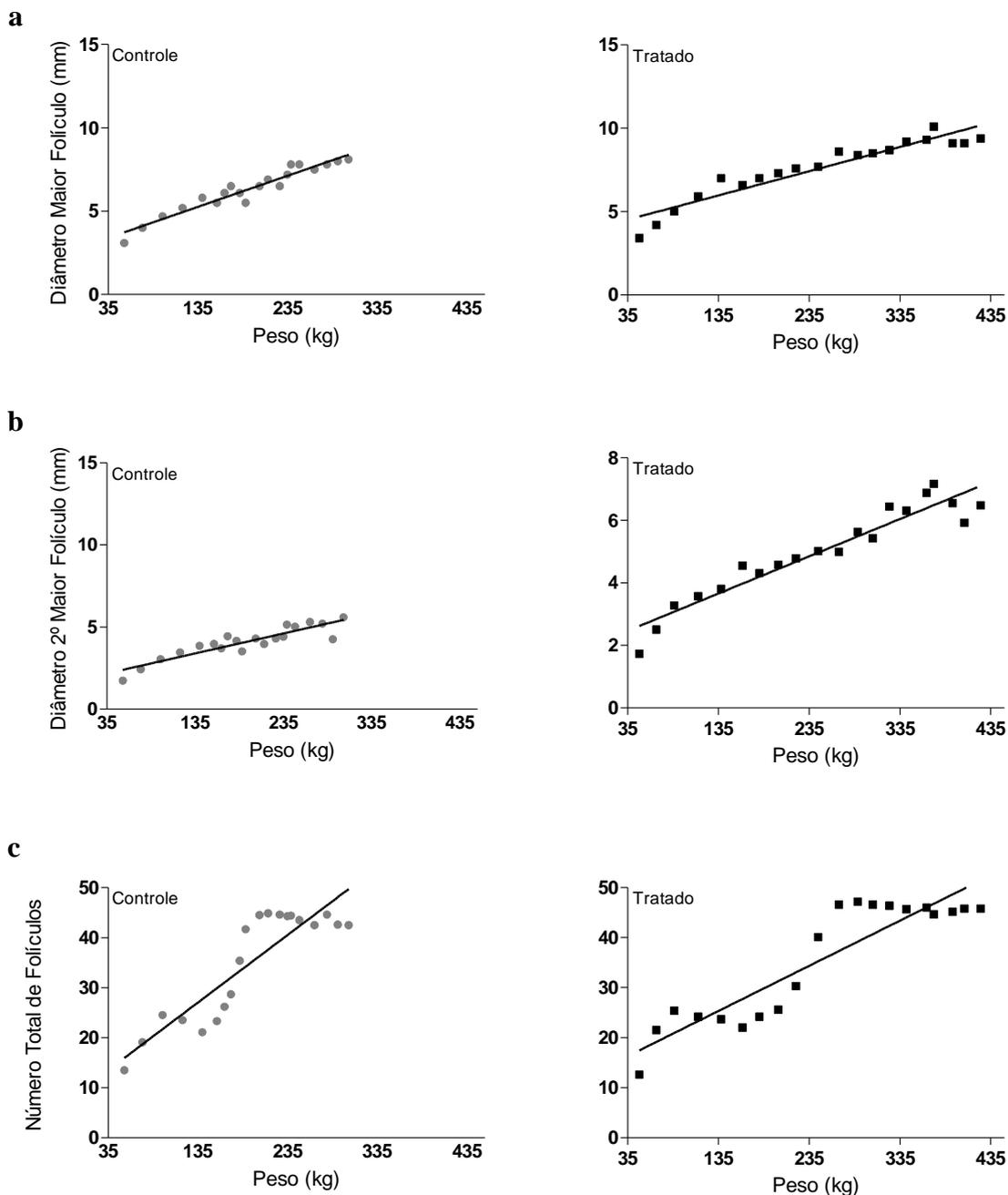


FIGURA 20- Correlação linear de Pearson entre ($p < 0,0001$) (a) o diâmetro do maior folículo (mm), (b) o segundo maior folículo (mm) e (c) o número total de folículos e o peso (kg) de novilha Nelore em função da idade em meses, dos 15 dias de vida aos 19 meses, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, $n=6$; $r=0,95$; $r=0,95$; $r=0,91$) e Controle (sem suplementação, $n=6$; $r=0,96$; $r=0,90$; $r=0,89$).

6.4.3 Ondas foliculares

Durante o experimento foram realizadas oito avaliações de 17 dias consecutivos para acompanhamento da dinâmica folicular durante o 2º, 4º, 6º, 9º, 12º e 15º mês de vida das novilhas.

Em todas as idades, nos dois grupos foi possível observar padrões de crescimento e regressão de folículos dominantes anovulatórios em forma de ondas (assim como, ADAMS et al., 1994; EVANS et al., 1994a,b; GINTHER et al., 1989; IRELAND, et al., 2000; KNOFF et al, 1989; PIERSON; GINTHER 1984; SAVIO et al., 1988). Independente do grupo, padrões de duas ou três ondas foliculares anovulatórias foram observados, havendo um predomínio da ocorrência de três ondas (semelhante a ADAMS et al., 1994; FIGUEIREDO et 1997; SARTORI & BARROS, 2011). Em cada período somente a onda completa foi considerada, incluindo o dia da emergência da onda até o último dia da fase de regressão.

Nos dois grupos, em função da idade, aumentaram: a duração da onda, o diâmetro do maior folículo, o número total de folículos ($p < 0,0001$) e a fase de crescimento da onda folicular ($p = 0,05$). A fase estática não diferiu entre os grupos em função da idade (Tabela 2; Figura 21 e 22).

Em novilhas Hereford (ADAMS et al., 1994; EVANS et al., 1994a,b) não houve diferença entre a fase de crescimento e estática do folículo dominante em função da idade e, à semelhança do presente estudo, o diâmetro do folículo dominante aumentou em função da idade.

No presente estudo, a fase estática, diferiu apenas entre os meses, mas não houve diferença entre os grupos. A alta ingestão de energia acelerou a taxa de crescimento folicular e reduziu a idade à puberdade (como observado em CARVALHO et al., 2013).

Como existem poucos estudos da dinâmica folicular em bezerras ou novilhas pré-púberes tanto taurinas quanto zebuínas, além da escassez de trabalhos contemporâneos entre as raças torna-se difícil traçar qualquer tipo de comparação que enriqueceriam ainda mais a discussão da presente pesquisa.

Tabela 2- Características (média±EPM) das ondas foliculares em novilhas Nelore pré-púberes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6), no 2º, 4º, 6º, 9º, 12º e 15º mês de vida, durante os períodos de avaliação por 17 dias consecutivos.

	Idade (meses)					
	2	4	6	9	12	15
Duração da onda (dias)	6,8±0,7 a	8,1±0,6 a	8,0±0,6 a	8,7±0,6 b	8,7±0,6 b	10,0±0,6 b
Fase de crescimento (dias)	8,1±0,8 a	7,7±0,7 a	7,7±0,6 a	9,7±0,6 b	9,8±0,6 b	10,2±0,6 b
	3,7±0,6 a	5,2±0,5 ac	4,3±0,4 ad	4,7±0,4 bc	4,5±0,4 bcd	4,7±0,4 bc
	3,8±0,6 a	4,2±0,5 ac	4,0±0,4 ad	5,3±0,5 bc	5,2±0,5 bcd	5,3±0,4 bc
Fase estática (dias)	2,0±0,5	2,2±0,4	2,2±0,4	2,2±0,4	2,2±0,4	1,5±0,4
Diâmetro maior foliculo (mm)	3,0±0,5	2,0±0,5	2,2±0,4	2,0±0,4	2,0±0,4	1,7±0,4
	4,5±0,4 a	5,8±0,4 b	6,2±0,4 c	6,2±0,4 d	6,1±0,4 e	7,9±0,4 f
Nº total de foliculos	4,5±0,4 a	6,7±0,4 b	7,4±0,4 c	7,8±0,4 d	7,6±0,4 e	9,3±0,4 f
	22,3±1,9 a	21,5±1,9 b	25,8±1,9 c	41,9±1,9 d	45,2±1,9 e	44,2±1,9 f
	24,7±1,9 a	24,9±1,9 b	25,2±1,9 c	37,3±1,9 d	47,3±1,9 e	46,5±1,9 f

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si.

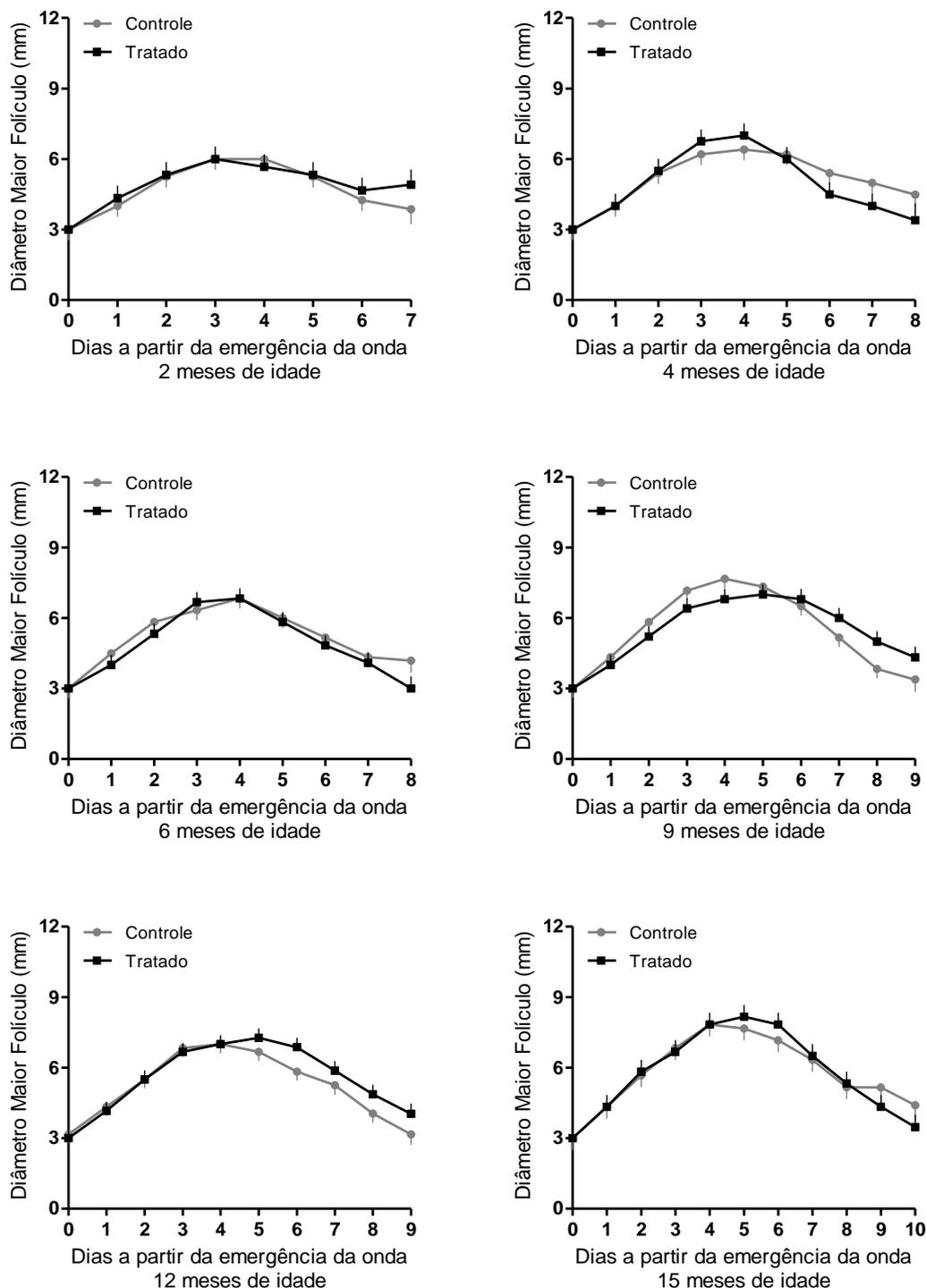


FIGURA 21- Diâmetro do folículo dominante (média±EPM) nas ondas foliculares em novilhas Nelore pré-púberes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6), no 2º, 4º, 6º, 9º, 12º e 15º mês de idade, durante os períodos de avaliação por 17 dias consecutivos.

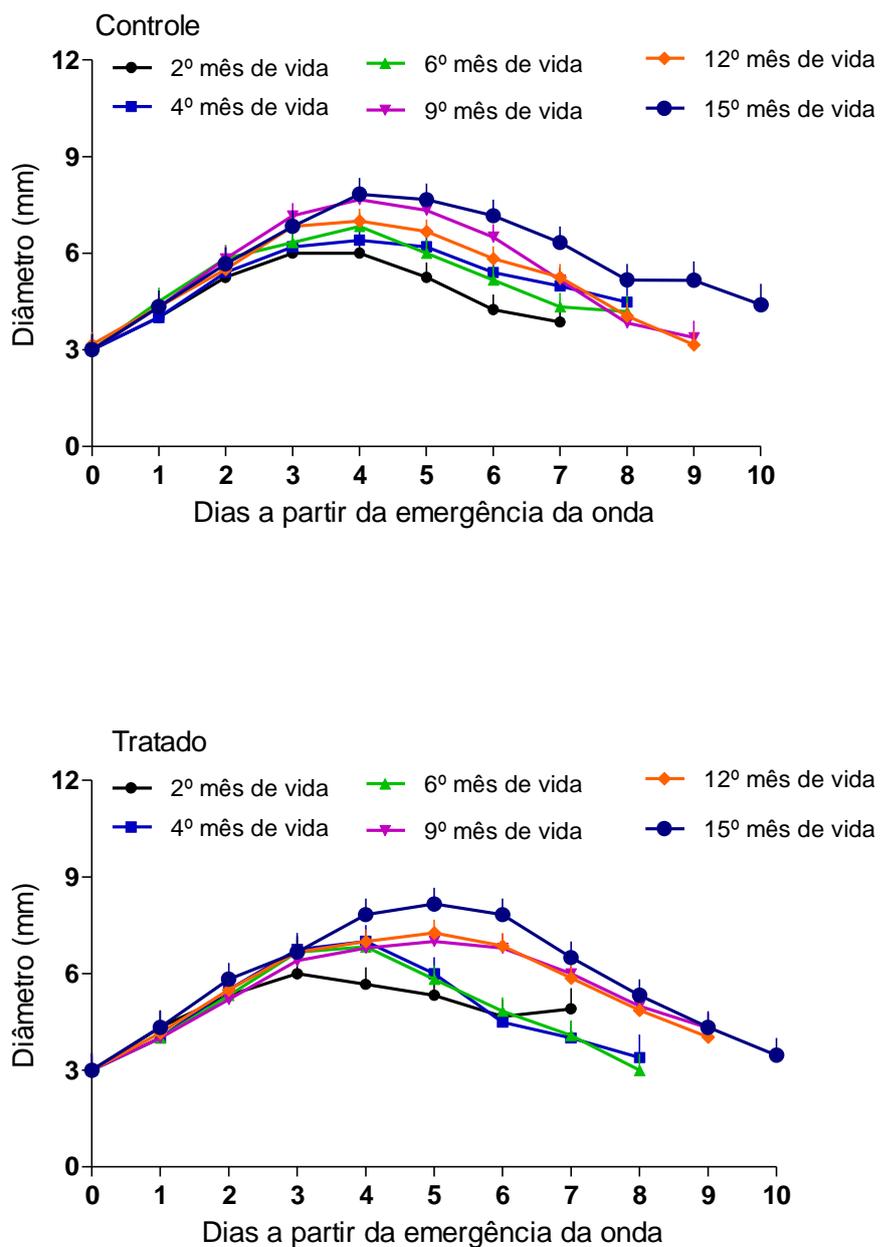


FIGURA 22- Fases de crescimento e regressão do folículo dominante (média±EPM) em novilhas Nelore pré-púberes (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6), no 2º, 4º, 6º, 9º, 12º e 15º mês de idade, durante os períodos de avaliação por 17 dias consecutivos.

Após as cinco novilhas do grupo tratado e a única novilha do grupo controle, atingirem a puberdade, foi realizado mais um período de avaliação de 17 dias consecutivos aos 21 meses de idade (Figura 23).

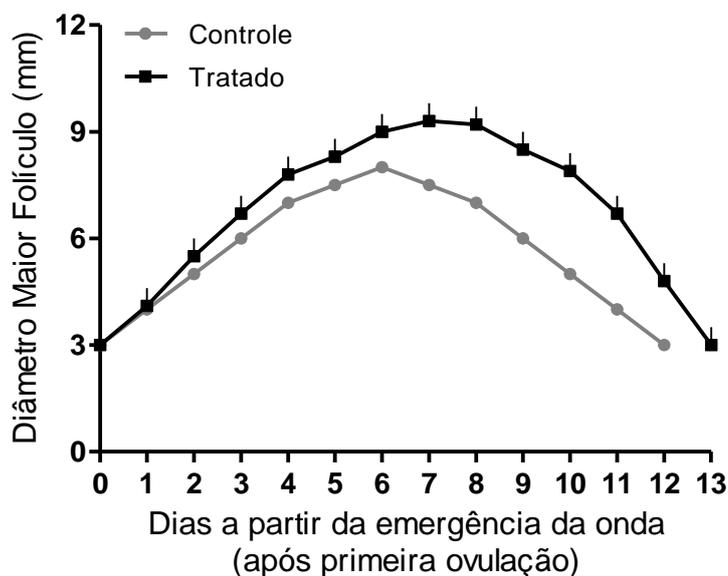


FIGURA 23- Características descritivas do folículo dominante nas ondas foliculares (na fase do diestro) em novilhas Nelore após a primeira ovulação recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=5) e Controle (sem suplementação, n=1) aos 21 meses de idade.

Para confirmar que as novilhas atingiram a puberdade foi mensurada a concentração de progesterona plasmática. A maioria das novilhas apresentaram o ciclo curto de progesterona na primeira ovulação, como relatado anteriormente (EVANS et al., 1994b) e concentração plasmática de progesterona superior a 1,0 ng/mL após duas coletas semanais consecutivas (HONARAMOOZ et al., 1999; NOGUEIRA et al., 2003; GASSER et al., 2006c; Figuras 24 e 25).

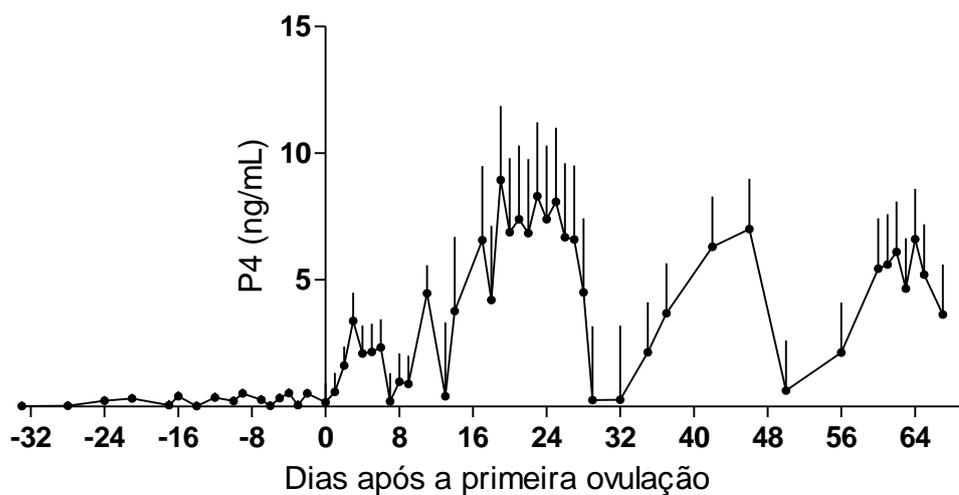


FIGURA 24- Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) em novilhas Nelore púberes (após a primeira ovulação) recebendo suplementação Tratado (suplementação com milho, n=5) aos 17,85 meses de idade.

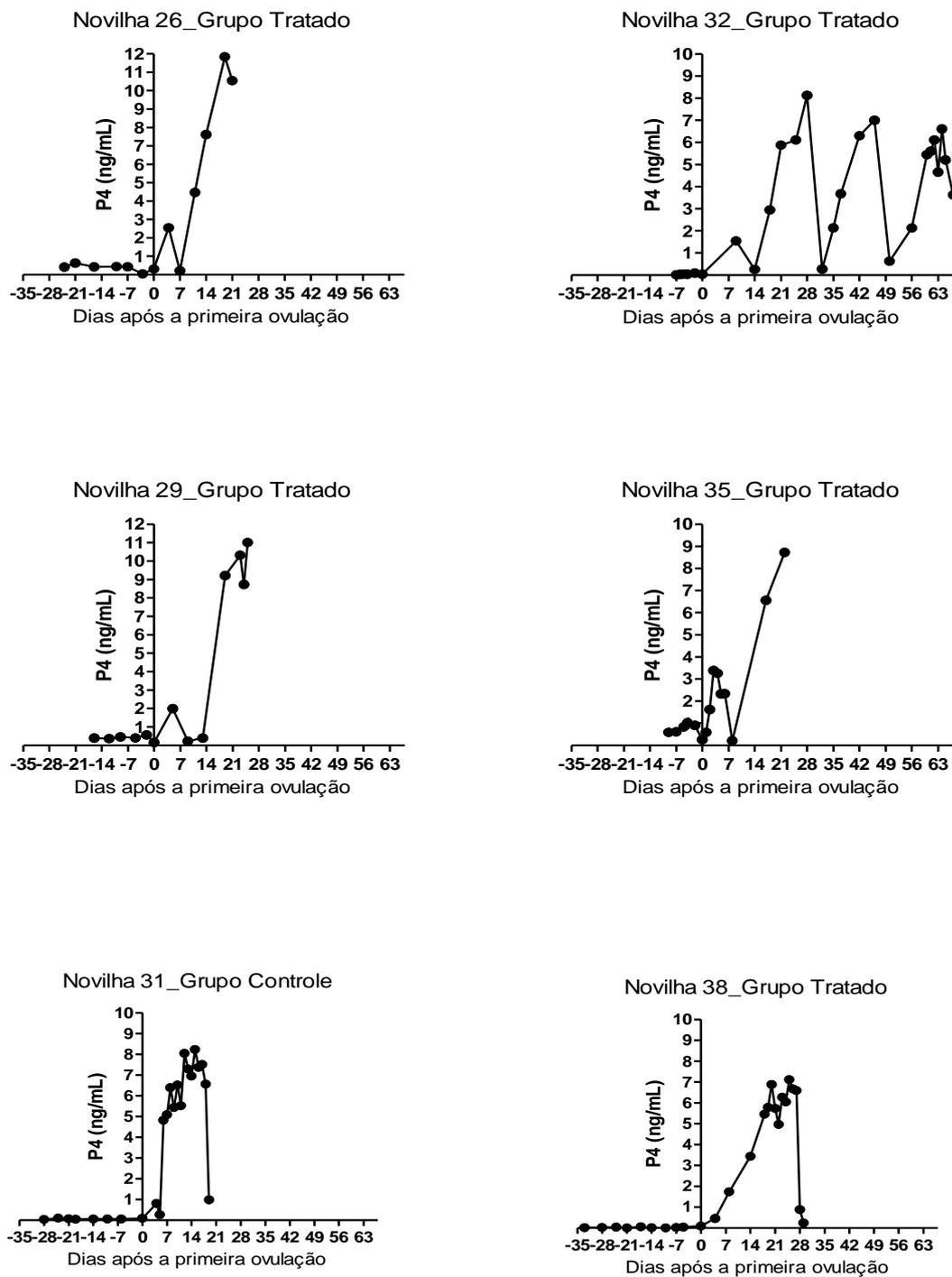


FIGURA 25- Concentração individual de progesterona plasmática (ng/mL) em novilhas Nelore púberes (após a primeira ovulação) recebendo suplementação Tratado (suplementação com milho, n=5) aos 17,85 meses de idade e Controle (sem suplementação, n=1) aos 20,1 meses de idade.

6.5 Peso e quantificação de leptina plasmática

A média dos pesos ao nascimento das 16 bezerras foi de $33\pm 3,08$ kg. As bezerras do grupo tratado foram desmamadas com $155,00\pm 2,31$ kg aos $156\pm 8,35$ dias de vida e as do grupo controle com $153,80\pm 2,31$ kg aos $155,50\pm 8,35$ dias de vida. A média mensal do ganho de peso do nascimento à desmama foi de $23,7\pm 0,04$ kg/mês para as bezerras do grupo tratado e de $22,8\pm 0,04$ kg/mês para as bezerras do grupo controle. A primeira ovulação aconteceu quando as bezerras do grupo tratado (cinco) pesavam $398,20\pm 10,60$ kg e a bezerra do grupo controle 361 kg. A média mensal do ganho de peso da desmama a puberdade foi de $19,5\pm 0,03$ kg/mês para as novilhas do grupo tratado e de $13,2\pm 0,03$ kg/mês para a novilha do grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3- Medidas descritivas do peso (kg; média \pm EPM) ao nascimento, à desmama, à puberdade, média do ganho de peso diário do nascimento à desmama e da desmama à puberdade, mensurado a cada sete dias, e idade à desmama e à puberdade em novilhas da raça Nelore recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6).

	Controle n=6	Tratamento n=6
Peso ao nascimento (kg)	$34,4\pm 1,26$	$31,9\pm 1,26$
Peso a desmama (kg)	$153,8\pm 2,31$	$155,0\pm 2,31$
Idade a desmama (dias)	$155,5\pm 8,35$	$156\pm 8,35$
Ganho de peso diário (kg) do nascimento a desmama	$0,76\pm 0,04$	$0,79\pm 0,04$
	n=1	n=5
Idade à primeira ovulação (dias)	605	$535,6\pm 33,7$
Peso à primeira ovulação(kg)	361	$398,20\pm 10,60$
Ganho de peso diário (kg) da desmama à primeira ovulação	$0,44\pm 0,03$	$0,65\pm 0,03$

No presente estudo não houve diferença no peso e na idade a desmama entre os grupos, pois essas variáveis foram fixadas, estabelecendo a desmama aos 150 kg ou sete meses de idade. Apesar do grupo tratado receber a suplementação, não houve diferença entre a média diária do ganho de peso do nascimento a desmama entre os grupos. Há relatos anteriores demonstrando que a alimentação (com alto nível de proteína e energia) aumentou a média diária do ganho de peso de bezerras antes da desmama, mas da raça Holandesa (BROW et al. 2005; BARPELED et al, 1997; FOLDAGER & KROHN,1994). Provavelmente nas bezerras Nelore a quantidade de ingestão de suplemento antes do período da desmama não foi suficiente para provocar diferença significativa.

Nos dois grupos o peso dos animais aumentou em função da idade ($p < 0,0001$) durante todo o experimento. Do nascimento a desmama não houve diferença no peso médio entre os grupos a diferença ($p < 0,0001$) só pode ser identificada a partir do 7º mês de idade (Figura 26).

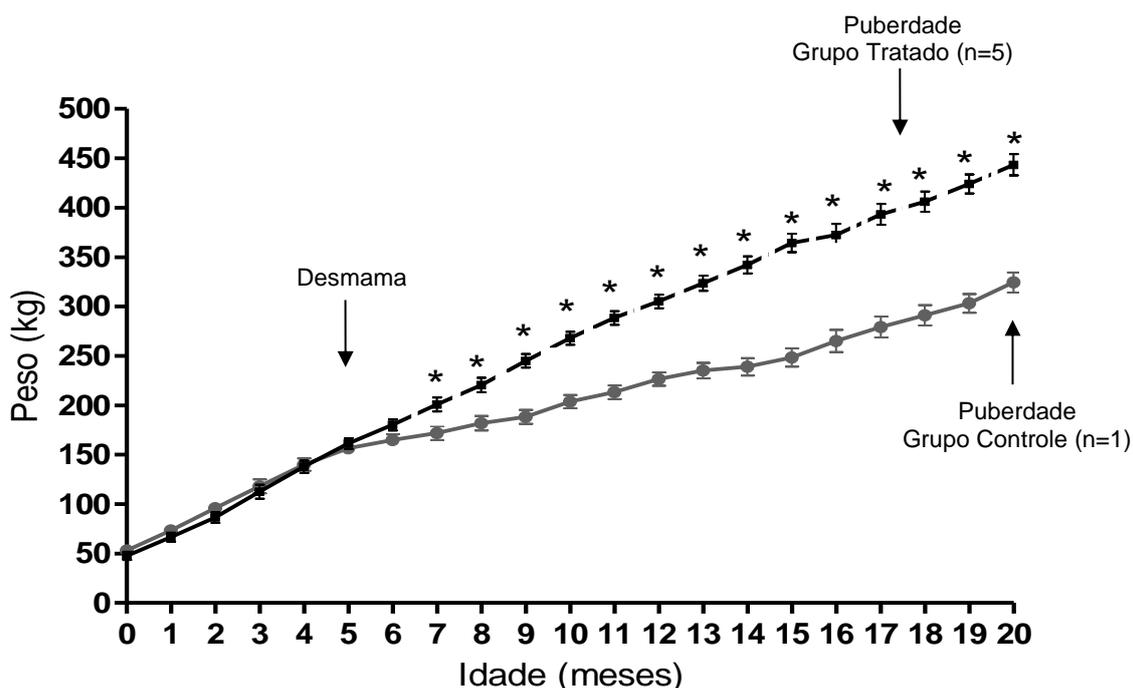


FIGURA 26- Variação do peso (kg; média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias foram obtidas por pesagens semanais do nascimento aos 20 meses e agrupadas em função da idade em meses.

A combinação de desmama precoce com uma dieta contendo elevada proporção de concentrado (60% de milho moído) foi um método eficaz para acelerar o desenvolvimento reprodutivo em novilhas de corte ($\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Simental) que ovularam aos 11 meses de idade (GASSER et al., 2006c).

Nos dois grupos o peso médio dos animais aumentou em função da idade durante todo o experimento. Mas somente a partir do 7º mês houve diferença entre os dois grupos, importante lembrar que a desmama aconteceu por volta dos 5 meses, uma das características do Nelore é a elevada habilidade materna, cujo efeito fica evidente nesta variável.

As novilhas do grupo tratado atingiram a puberdade mais cedo e mais pesadas do que a novilha do grupo controle coincidindo com relatos anteriores (BERGFELD et al., 1994; CARVALHO et al., 2013; LARSON, 2007). Porém quando associada a desmama precoce aos 73 ± 3 dias e alimentação com dieta elevada em concentrado houve redução na idade à primeira ovulação mesmo por novilhas mais leves (GASSER et al., 2006c).

A média do ganho de peso diário da desmama à puberdade foi de $0,65\pm 0,03$ kg/dia para as novilhas do grupo tratado e de $0,44\pm 0,03$ kg/dia para o grupo controle coincidindo com relatos anteriores (DAVIS RINCKER et al., 2011).

A porcentagem do ganho de peso das novilhas foi maior antes da desmama. Após a desmama o grupo tratado apresentou maior ganho percentual de peso do que o grupo controle (GASSER et al, 2006 c; CARVALHO et al., 2013; Figura 27).

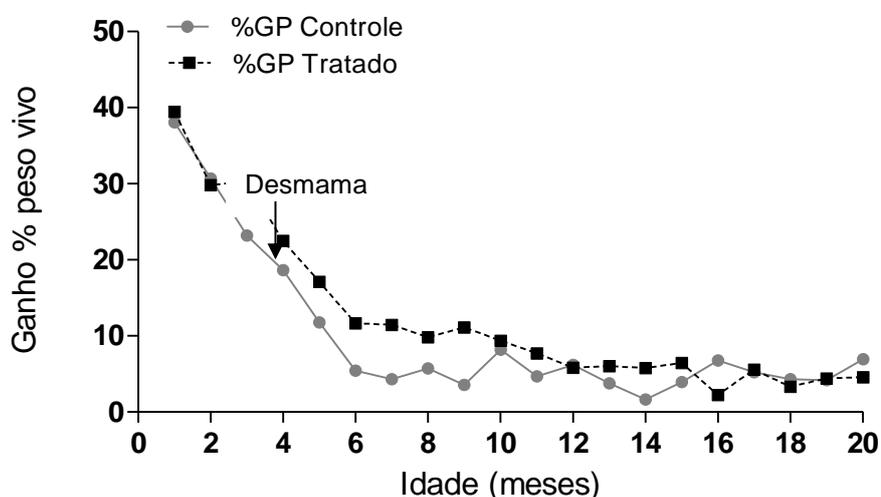


FIGURA 27- Ganho percentual da média de peso em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5º mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As médias foram obtidas por pesagens semanais do nascimento aos 20 meses e agrupadas em função da idade em meses.

O ganho de peso após a desmama tem grande influência na idade à puberdade. Animais com maior ganho de peso no pós-desmame antecipam a puberdade (HALL et al., 1995; QUINTANS et al., 2004). Porém a suplementação com energia antecipou a idade a puberdade, sem aumentar o peso de novilhas Nelore à puberdade (ROMANO et al., 2007). Em novilhas de corte ($\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Simental) a desmama precoce associada ao fornecimento de alta energia antecipou a idade à puberdade e aumentou o peso dos animais (MAQUIVAR, 2011).

A idade à puberdade nas novilhas zebuínas acontece ao redor de 22 a 36 meses, (ROMANO et al., 2007). Esta idade está diretamente relacionada ao peso e condição corporal da novilha. Novilhas que consomem maior quantidade de energia e apresentam maior taxa de ganho de peso diário e ovulam mais cedo (FERREL et al., 1991).

O grupo controle, por ter recebido uma dieta com baixo teor de energia (NDT=56,96%), por mimetizar a alimentação em pasto de braquiária, apresentou a puberdade tardia ou não apresentou a puberdade entre os 22 e 24 meses. Essa restrição energética pode ter atrasado a secreção de LH que antecede a puberdade (BERGFELD et al., 1994; DAY et al., 1986; YELICH et al., 1996).

O fator nutricional possui uma importante participação na expressão do potencial de puberdade precoce. Mais importante que o peso é o fato do animal estar ganhando ou perdendo peso, que interfere na secreção de gonadotrofinas e no desenvolvimento folicular (NOGUEIRA, 2004).

As novilhas do grupo tratado aos 17 meses de idade apresentaram maior média da espessura de gordura no subcutâneo entre a 12^a e 13^a costelas, quando comparadas com as novilhas do grupo controle ($2,5 \pm 1,7$ vs $0,4 \pm 0,04$ mm, respectivamente), sugerindo maior reserva energética nesses animais. O estado

nutricional e a taxa de ganho de peso vivo são determinantes no momento do início da puberdade (GASSER et al., 2006c).

Nas novilhas, *Bos taurus* e *Bos indicus*, a puberdade é determinada pela maturação do hipotálamo, caracterizada pela redução da retroalimentação negativa de estradiol e aumento da frequência de pulso de LH (GASSER et al., 2006). Embora os mecanismos fisiológicos envolvidos neste processo de maturação ainda não estejam totalmente esclarecidos, eles são claramente influenciados pelo peso e escore corporal (WILLIAMS; AMSTALDEN, 2010).

O aumento do peso pode ser identificado pelo hipotálamo através do aumento das concentrações plasmáticas de IGF-I (GARCIA et al., 2002; JONES et al., 1991) e/ou de leptina (FOSTER & NAGATANI, 1999).

A leptina é um peptídeo secretado pelos adipócitos brancos que desempenha um papel na regulação do peso corporal, ingestão de alimentos (BOLAND et al., 2001; FRUHBECK, 2001) e age como um sinal metabólico informando ao sistema nervoso central que existe reserva corporal suficiente para suprir as demandas do processo reprodutivo (BARASH et al., 1996; HAUSMAN et al., 2012).

Tem sido postulado que a leptina atua como um agente permissivo para a ocorrência da puberdade (WYLIE, 2010), por regular a secreção de LH e estimular o crescimento folicular indiretamente através da indução da secreção de LH pela hipófise (AMSTALDEN et al., 2003; KADOKAWA et al., 2006; HAUSMAN et al., 2012).

No presente estudo, a concentração plasmática de leptina dos animais nos dois grupos, aumentou em função da idade ($p < 0,0001$) quando a maioria das novilhas do grupo tratado atingiu a puberdade.

Do nascimento a desmama, não houve diferença na concentração plasmática de leptina entre os grupos, diferente do que foi observado em bezerras da raça Holandesa, no período pré-desmama, suplementadas com excesso de energia e proteína, que apresentaram maiores concentrações plasmáticas de leptina quando comparadas a bezerras não suplementadas (BROWN et al., 2005).

Houve diferença ($p=0,023$) entre o grupo tratado quando comparado ao grupo controle na concentração de leptina plasmática no 13^o, 14^o, 16^o e 17^o mês de vida, ($5,67\pm0,53$ vs $4,04\pm0,53$ ng/mL, $5,79\pm0,53$ vs $4,34\pm0,53$ ng/mL, $7,12\pm0,53$ vs $5,21\pm0,53$ ng/mL e $6,74\pm0,67$ vs $5,11\pm0,53$ ng/mL respectivamente; Figura 28).

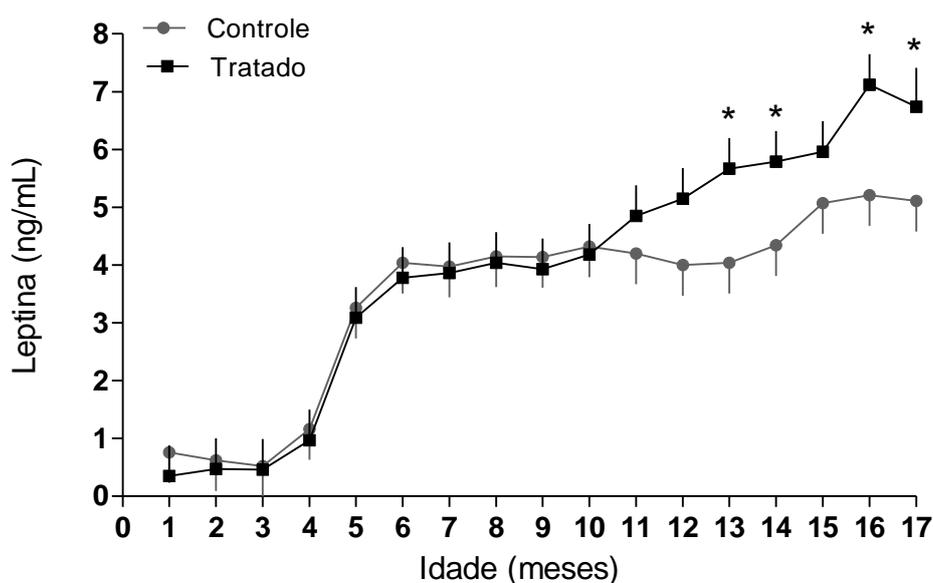


FIGURA 28- Variação na concentração de leptina plasmática (ng/mL; média±EPM) em função da idade em meses, de novilhas Nelore (desmamadas no 5^o mês) recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, n=6) e Controle (sem suplementação, n=6). As concentrações plasmáticas de leptina foram obtidas a partir de mensurações a cada quatro dias desde o primeiro mês de vida até os 17 meses e agrupadas em função da idade em meses.

A concentração plasmática de leptina nas novilhas Nelore aumentou numericamente com o aumento do peso corporal nas novilhas. Garcia et al. (2002) observaram aumento da concentração de leptina conforme a idade aumentava em novilhas cruzadas e este mesmo aumento foi observado por Beltran (2008) em novilhas Nelore a partir dos 12 meses de idade tanto em animais precoces quanto em não precoces.

No presente estudo, da desmama aos 17 meses de vida a concentração plasmática de leptina das novilhas Nelore apresentou correlação positiva com o peso corporal nos dois grupos, onde o grupo tratado apresentou $r=0,96$; $p<0,0001$ e no grupo controle $r=0,83$; $p=0,0005$ (Figura 29).

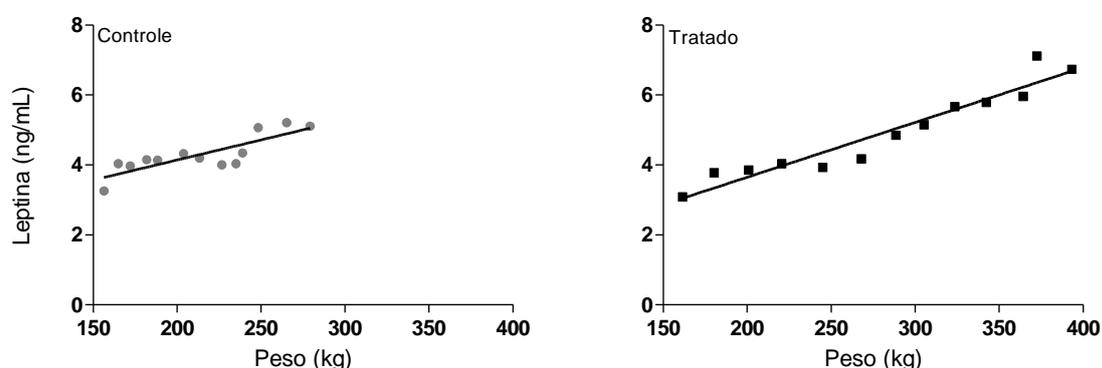


FIGURA 29- Correlação linear de Pearson entre a concentração plasmática de leptina (ng/mL) e o peso (kg) de novilhas Nelore em função da idade em meses, da desmama aos 17 meses, recebendo suplementação ou não: Tratado (suplementação com milho, $n=6$; $r=0,96$; $p<0,0001$) e Controle (sem suplementação, $n=6$; $r=0,83$; $p=0,0005$).

A diminuição da velocidade do crescimento somático e o aumento da quantidade e tamanho dos adipócitos é certamente o responsável pelo aumento na

concentração de leptina circulante durante a maturação sexual nos bovinos (BOLAND et al., 2001; GARCIA et al., 2002; WYLIE 2010), já que animais com boa condição corporal têm maior quantidade de gordura e conseqüentemente maior quantidade de leptina circulante (BLACHE et al., 2000; EHRHARDT et al., 2000; BROWN et al., 2005). O aumento na gordura corporal pode ser traduzido em aumento na concentração de leptina plasmática através da hipertrofia dos adipócitos, de acordo com a correlação entre a leptina plasmática e o peso corporal em novilhas (BELTRAN, 2008).

No período que antecedeu a primeira ovulação no grupo tratado, (entre o 16º e o 17º mês de idade), foi o momento de maior aumento de peso e no 16º mês foi a maior concentração plasmática de leptina. Essa elevada concentração de leptina, conseqüência de maior quantidade de gordura corporal, possivelmente sinalizou ao SNC de que a novilha estava em condições metabólicas adequadas (ZIEBA, et al., 2004) para manter uma gestação, caso isso ocorresse.

Acredita-se que os efeitos da leptina sobre a secreção de gonadotrofinas sejam mediados, em parte, pelo neuropeptídeo Y (NPY; KALRA; CROWLEY, 1992; BOLAND et al., 2001) um importante mediador primário da ação da leptina no hipotálamo por estimular a liberação basal e cíclica de GnRH e correlacionar-se com as mudanças associadas a liberação de LH induzida pelo GnRH (KALRA; KALRA, 1996; PERRY, 2012) em resposta às condições metabólicas do animal.

Dessa forma, nesse estudo o aumento da concentração plasmática de leptina, um produto fisiológico do balanço energético positivo, ocorreu associado ao aumento do peso corporal e associado, podem ter influenciado a idade a primeira ovulação nas novilhas Nelore do grupo tratado.

CONCLUSÕES

Levando em consideração as condições experimentais concluiu-se que:

- 1) As novilhas suplementadas com milho moído apresentaram aumento das concentrações plasmáticas de gonadotrofinas no 4^o e 5^o mês de vida e aumento significativo da concentração plasmática de leptina a partir do 13^o mês de vida (cinco meses antes da primeira ovulação);
- 2) As novilhas suplementadas com milho moído apresentaram maior diâmetro do segundo maior folículo a partir do 9^o mês de vida (oito meses antes da primeira ovulação);
- 3) As novilhas suplementadas com milho moído anteciparam a idade à puberdade;
- 4) A antecipação da idade a primeira ovulação está associada com o aumento do diâmetro do maior folículo e o peso do animal no período pré-púbere.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação alimentar antes da desmama e o aumento da ingestão de energia para 2,93 Mcal/kg/dia depois da desmama contribuiu para a antecipação a primeira ovulação em 5 meses em relação a novilhas Nelore mantidas em situações semelhantes as pastagens brasileiras com baixa porcentagem de proteína bruta.

REFERÊNCIAS

ABIEC, Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes, 2013.
www.abiec.com.br

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

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

ALENCAR, M.M.; COSTA, J.L.; CORREA, L.A. Desempenho reprodutivo de fêmeas das raças Canchim e Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, p. 753-758, 1987.

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

AMSTALDEN, M.; ZIEBA, D. A.; EDWARDS, J. F.; HARNES, P. G.; WELSH, T. H.; STANKO, R. L.; WILLIAMS. G. L. Leptin acts at the bovine denohypophysis to enhance basal and gonadotropinreleasing hormone-mediated release of luteinizing hormone: Differential effects are dependent upon nutritional history. **Biology of Reproduction**, v.69, p.1539–1544, 2003.

ANUALPEC, Anuário da Pecuária Brasileira online, 2013.
<http://www.anualpec.com.br/>

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

BARASH, I.A.; CHEUNG, C.C.; WEIGLE, D.S.; REN, H.; KABIGTING, E.B.; KUIJPER, J.L.; CLIFTON, D.K.; STEINER, R.A. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. **Endocrinology**, v.137, p.3144-3147, 1996.

BAR-PELED, U.; ROBINZON, B.; MALTZ, E.; TAGARI, H.; FOLMAN, Y.; BRUCKENTAL, I.; VOET, H.; GACITUA, H.; LEHRER, A. R. Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein heifer calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2523–2528, 1997.

BELTRAN, M.P. **Influência da leptina e IGF-I plasmáticos sobre a puberdade e a precocidade sexual de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*)** 2008. 89f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

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

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, p.567-590, 1990.

BESSER, T.E.; GAY, C.C. The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v.10, p.107-17, 1994.

BLACHE, D.; TELLAM, R.L.; CHAGAS, L.M.; BLACKBERRY, M.A.; VERCOE, P.E.; MARTIN, G.B. Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 165, p. 625–637, 2000.

BLOCK, S.S.; SMITH, J.M.; EHRHARDT, R.A.; DIAZ, M.C.; RHOADS, R.P.; VAN AMBURGH, M.E.; BOISCLAIR, Y.R. Nutritional and developmental regulation of plasma leptin in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3206–3214, 2003.

BLUM, J.W.; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. **Livestock Production Science**, v.66, p. 151–159, 2000.

BLUM, J.W.; HAMMON, H. Endocrine and metabolic aspects in milkfed calves. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, p. 219–230, 1999.

BLUM, J.W.; ZBINDEN, Y.; HAMMON, H.M.; CHILLIARD, Y. Plasma leptin status in young calves: effects of pre-term birth, age, glucocorticoid status, suckling, and feeding with an automatic feeder or by bucket. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 28, p.119-133, 2005.

BOLAND, M.P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. **Theriogenology**, v. 55, p.1323-1340, 2001.

BOLT, D.J.; ROLLINS, R. Development and application of a radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, v.56, p.146-54, 1983.

BOLT, D.J.; SCOTT, V.; KIRACOFE, G.H. Plasma LH and FSH after estradiol norgestomet and GnRH treatment in ovariectomized beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.23, p.263-71, 1990.

BOGGS, D.L.; SMITH, E.F.; SCHALLES, R.R.; BRENT, B.E.; CORAH, L.R.; PRUITT, R.J. Effects of milk and forage intake on calf performance. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 550-553, 1980.

BRITO R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; FERNANDES, A.R.M.; HENRIQUE, W.; CATTELAN, J.W.; ROUTMAN, K.S. Degradabilidade in situ e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas balanceadas para diferentes ganhos de peso e potenciais de fermentação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1639-1650, (suplemento), 2007.

BROWN, E.G.; VANDEHAAR, M.J.; DANIELS, K.M.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; KEISLER, D.H.; WEBER NIELSEN, M.S. Effect of Increasing Energy and Protein Intake on Body Growth and Carcass Composition of Heifer Calves. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 585–594, 2005.

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

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

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

CARVALHO, P.A.; SANCHEZ, L.M.B.; VIÉGAS, J.; VELHO, J.P.; JAURIS, G.C.; RODRIGUES, M.B. Desenvolvimento de estômago de bezerros holandeses desaleitados precocemente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p.1461-1468, 2003.

CHELIKANI, P.K.; AMBROSE, J.D.; KENNELLY, J.J. Effect of dietary energy and protein density on body composition, attainment of puberty, and ovarian follicular dynamics in dairy heifers. **Theriogenology**, v. 60, p.707–725, 2003.

COSTA, K.A.P.; OLIVEIRA, I.P.; FAQUIN, V. Intervalo de corte na produção de massa seca e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv MG-5. **Ciência Agrotécnica Lavras**, v.31, p.1197-1202, 2007.

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

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

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

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; ZALESKY, D.D.; KITTOK, R.J.; KINDER, J.E. Effects of restriction of dietary energy intake during the prepubertal period on secretion of luteinizing hormone and responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1641–1648, 1986.

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

DIAZ-TORGA, G.S.; MEIJA, M.E.; GONZÁLEZ-IGLESIAS, A.; FORMIA, N.; BECÚVILLALOBOS, D. LACAU-MENGIDO, I.M. Metabolic cues for puberty onset in free-grazing Holstein heifers naturally infected with nematodes. **Theriogenology**, v.56, p. 111-122, 2001.

DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; ROCHE, J.F.; SREENAN, J.M. Effects of Nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, n. 78, p.345–370, 2003.

DODSON, S.E.; Mc LEOD, B.J.; HARESIGN, W.; PETERS, A.R.; LAMMING, G.E. Endocrine changes from birth to puberty in the heifer. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 82, p. 527-538, 1988.

DODSON, S.E.; MacLEOD, B.J.; HARESIGN, W.; PETERS, A.R.; LAMMING, G.E. DAS, D. Ovarian control of gonadotrophin secretion in the prepubertal heifer. **Animal Reproduction Science**, v.21, p. 1-10, 1989.

DONAVAN, B. T.; VAN DER WERFF, J. J. B. Precocious puberty in rats with hypothalamic lesions. **Nature**, v.178, p. 745, 1956. *apud* OJEDA, S. R.; URBANSKI, H. F. **Puberty in the rat**. In: Knobil. E.; Neill. J. D. The physiology of reproduction. New York: Raven Press, p. 1878, 1994.

EHRHARDT, R.A.; GREENWOOD, P.L.; BELL, A.W.; BOISLAIR, Y.R. Plasma leptin is regulated predominantly by nutrition in pre-ruminant lambs. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 4196–4201, 2003.

EHRHARDT, R.A.; SLEPETIS, R.M.; SIEGAL-WILLOTT, J.; VAN AMBURGH, M.E.; BELL, A.W. BOISCLAIR, Y.R. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 166, p. 519–528, 2000.

EMERICK, L.L.; DIAS, J.C.; GONÇALVES, P.E.M.; MARTINS, J.A.M.; LEITE, T.G.; ANDRADE, V.J.; VALE FILHO, V.R. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, p.11-19, 2009.

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

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

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

EVANS, A.C.O.; CURRIE, W.D.; RAWLINGS, N.C. Effects of naloxone on circulating gonadotrophin concentrations in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 96, p. 847-855, 1992.

EVANS, A.C.O.; DAVIS, F.J.; NASSER, L.F.; BOWMAN, P.; RAWLINGS, N.C. Differences in early patterns of gonadotropin secretion between early and late maturing bulls and changes in semen characteristics at puberty. **Theriogenology**, v.43, p. 569–578, 1995.

EVANS, A.C.O.; MOSSA, F.; WALSH, S.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J. Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 31–37, 2012.

EVANS, A.C.O.; RAWLINGS, N.C. Effects of treatment with LH and FSH between 8 and 12 weeks of age on ovarian follicular development and puberty in heifers. **Theriogenology**, v.44, p. 725-740, 1995.

EVANS, N.P.; DAHL G.E.; MAUGER D.T.; PADMANABHA V.; THRUN L.A., KARSCH F.J. Does estradiol induce the preovulatory gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge in the ewe by inducing a progressive change in the mode of operation of the GnRH neurosecretory system? **Endocrinology**, v.136, p.5511-5519, 1995.

FERREL, C.L. Nutritional influences on reproduction. In: CUPPS, P.T. **Reproduction in Domestic Animals**. 4th Ed. Academic Press, Inc. p. 577-603.1991.

FIGUEIREDO, R.; BARROS, C.; PINHEIRO, O.; SOLER, J. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p.1489-505, 1997.

FOLDAGER, J.; KROHN, C. C. Heifer calves reared on very high or normal levels of whole milk from birth to 6-8 weeks of age and their subsequent milk production. **Proceedings of the Society of Nutrition Physiology**, v. 3, p.301. (Abstr.), 1994.

FORDE, N.; BELTMAN, M.E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J.F.; CROWE, M.A. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 1241, p. 63–169, 2011.

FORDYCE, J.; COOPER, N.J.; KENDALL, I.E.; O'LEARY, B.M.; FAVERI, J.; FAVERI, J.D. Creep feeding and prepartum supplementation effects on growth and fertility of Brahman-cross cattle in the dry tropics. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.36, p. 389-395, 1996.

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

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

FRUHBECK, G. A heliocentric view of leptin. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, p. 301–318, 2001.

GARCIA, M.R.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, S.W.; STANKO, R.L.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H.; NIZIELSKI, S.E.; WILLIAMS, G.L. Serum leptin and its

adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 60, p.2158-2167, 2002.

GASPARELLI, E.R.F.; CAMARGO, D.G.; YANAKA, R.; PERRI, S.H.V.; NOGUEIRA, G.P.; LISBOA, J.A.N.; FEITOSA, F.L.F. Teores séricos de proteína total, imunoglobulina G e cortisol em bezerros Nelore ao nascimento e às 24 horas de vida: Influência do tipo e duração dos partos. **Ars Veterinaria**, v.25, n.3, p. 120-124, 2009.

GASSER, C.L.; BRIDGES, G.A.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E.; KINDER, J.E.; DAY, M.L. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.2050–2056, 2006a.

GASSER, C.L.; BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; BEHLKE, E.J.; GRUM, D.E.; KINDER, J.E.; DAY, M.L. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.2042–2049, 2006b.

GASSER, C.L.; GRUM, D.E.; MUSSARD, M.L.; FLUHARTY, F.L.; KINDER, J.E.; DAY, M.L. Induction of precocious puberty in heifers I: Enhanced secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.2035-2041, 2006c.

GIMENES, L.U.; FANTINATO NETO, P.; ARANGO, J.S.P.; AYRES, H.; BARUSELLI, P.S. Follicular dynamics of *Bos indicus*, *Bos taurus* and *Bubalus bubalis* heifers treated with norgestomet ear implant associated or not to injectable progesterone. **Animal Reproduction Science**, v. 6, p. 256, 2009.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F.X.; BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 239-257, 2003.

GINTHER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOPF, L. Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 32, p. 787-795, 1989.

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

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, p. 1187–1194, 1996.

GOES, R.H.T.B.; LAMBERTUCCI, D.M.; BRABES, K.C.S.; ALVES, D.D. Suplementação proteica e energética para bovinos de corte em pastagens tropicais. **Arquivo de Ciências Veterinária Zoologia**, v. 11, p. 129-137, 2008.

HADORN, U.; BLUM, J.W. Effects of feeding colostrum, glucose or water on the first day of life on plasma immuno-globulin G concentrations and g-glutamyltransferase activities in calves. **Journal of Veterinary Medicine**, v.44, p. 531–537, 1997.

HALL, J.B.; STAIGMILLER, R.B.; BELLOWS, R.A.; SHORT, R.E.; MOSELEY, W.M.; BELLOWS, S.E. Body composition and metabolic profiles associated with puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3409-3420, 1995.

HAUSMAN, G.J.; BARB, C.R.; LENTS, C.A. Leptin and reproductive function. **Biochimie**, v. 94, p. 2075-2081, 2012.

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

HOHLWEG, W.; DOHRN, M. Über die beziehungen zwischen hypophysenvorderlappen und keimdrusen. **Klin Wochenschr**, v. 11, p. 233-235, 1932. *apud* OJEDA, S. R.; URBANSKI, H. F. **Puberty in the rat**. In: Knobil. E.; Neill. J. D. The physiology of reproduction. New York: Raven Press, p. 1878, 1994.

HONARAMOOZ, A.; ARAVINDAKSHAN, J.; CHANDOLIA, R.K.; BEARD, A.P.; BARTLEWSKI, P.M.; PIERSON, R.A.; RAWLINGS, N.C. Ultrasonographic evaluation of the pre-pubertal development of the reproductive tract in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.80, p. 15-29, 2004.

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

HONARAMOOZ, A.; CHANDOLIA, R.K.; BEARD, A.P.; RAWLINGS, N.C. Opioidergic, dopaminergic and adrenergic regulation of LH secretion in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 199, p. 207-215, 2000.

HUTSON, J.M.; HASTHORPE, S.; HEYNS, C.F. Anatomical and Functional Aspects of Testicular Descent and Cryptorchidism. **Endocrine Reviews**, v. 18, p. 259-280, 1997.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2012. www.ibge.gov.br

IRELAND, J.J.; MIHM, M.; AUSTIN, E.; DISKIN, E. M. G.; ROCHE, J.F. Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements, and terms. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1648–1658, 2000.

IRELAND, J.J.; WARD, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the

proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human Reproduction**, v. 22, p.1687–1695, 2007.

IRELAND, J.L.H.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMME, A.P.; WARD, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; PEREZ, G.I.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of Reproduction**, v. 79, p. 1219–1225, 2008.

JONES, E.J.; ARMSTRONG, J.D.; HARVEY, R.W. Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais, and Simmental heifers. **Journal of Animal Science**, v.69, p.1607-1612, 1991.

KADOKAWA, H.; BLACHE D.; MARTIN, G.B. Plasma leptin concentrations correlate with luteinizing hormone secretion in early postpartum Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3020–3027, 2006.

KALRA, S.P.; CROWLEY, W.R. Neuropeptide Y: a novel neuroendocrine peptide in the control of pituitary hormone secretion, and its relation to luteinizing hormone. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.13, p. 1-46, 1992

KALRA, S.P.; KALRA, P. S. Nutritional infertility: the role of interconnected hypothalamic neuropeptide Y-galanin-opioid network. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 17, p. 371-401, 1996.

KANEKO, H.; NOGUCHI, J.; KIKUCHI, K.; AKAGI, S.; SHIMADA, A.; TAYA, K.; WATANABE, G.; HASEGAWA, Y. Production and endocrine role of inhibin during the early development of bull calves. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 209–215, 2001.

KANE, K.K.; HAWKINS, D.E.; PULSIPHER, G.D.; DENNISTON, D.J.; KREHBIEL, C.R.; THOMAS, M.G.; PETERSEN, M.K.; HALLFORD, D.M.; REMMENGA, M.D.;

ROBERTS, A.J.; KEISLER, D.H. Effect of increasing levels of undegradable intake protein on metabolic and endocrine factors in estrous cycling beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 283–291. 2004.

KAUR, H.; ARORA, S.P. Dietary effects on ruminant livestock reproduction with particular reference to protein **Nutrition Research Review**, v.8, p.121-136, 1995.

KIESS, W.; SIEBLER, T.; ENGLARO, P.; KRATZSCH, J.; DEUTSCHER, J.; MEYER, K.; GALLAHER, B.; BLUM, W.F. Leptin as a metabolic regulator during fetal and neonatal life and in childhood and adolescence. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 11, p. 483–496, 1998.

KINDER, J.E.; BERGFELD, E.G.M.; WEHRMAN, M.E., PETERS, K.E.; KOJIMA, F.N. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, Supplement 49, p.393-407, 1995.

KINSBERGEN, M.; SALLMANN, H.P.; BLUM, J.W. Metabolic, endocrine and hematological changes in 1-week old calves after milk intake, in response to fasting and during total parenteral nutrition. **Journal of Veterinary Medicine**, v.41, p. 268–282, 1994.

KNOPF, L.; KASTELIC, J.P.; SCHALLENBERGER, E.; GINTHER, O.J. Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v.6, p. 111-120, 1989.

KURZ, S. G.; DYER, R.M.; HU,Y.; WRIGHT, M.D.; DAY, M.L. Regulation of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers fed an energy-deficient diet. **Biology of Reproduction**, v. 43, p. 450-456, 1990.

LALMAN, D.L.; PETERSEN, M.K.; ANSOTEGUI, R.P.; TESS, M.W.; CLARK, C.K.; WILEY, J.S. The effects of ruminally undergradable protein, propionic acid, and

monensin on puberty and pregnancy in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 2843-2852, 1993.

LARSON, R. L. Heifer development: Reproduction and nutrition. **Veterinary Clinics of North America**, v. 23, p. 53–68, 2007.

MADGWICK, S.; EVANS, A.C.O.; BEARD, A.P. Treating heifers with GnRH from 4 to 8 weeks of age advanced growth and the age at puberty. **Theriogenology**, v. 63, p. 2323-2333, 2005.

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

MAYER, C.; ACOSTA-MARTINEZ, M.; DUBOISB, S.L.; WOLFEC, A.; RADOVICKC, S.; BOEHMA, U.; LEVINE, J.E. Timing and completion of puberty in female mice depend on estrogen receptor α -signaling in kisspeptin neurons. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 107, p. 22693–22698, 2010.

MAQUIVAR, M.G. **NUTRITIONAL REGULATION OF PRECOCIOUS PUBERTY IN HEIFERS** 2011. 182F. GRADUATE PROGRAM IN ANIMAL SCIENCES, TESIS (DOUTORADO) - OHIO STATE UNIVERSITY, COLUMBUS, OHIO, EUA, 2011.

McDONALD, L.E. **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4th. Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, p. 597, 2003.

McFADIN, E.L.; MORRISON, C.D.; BUFF, P.R.; WHITLEY, N.C.; KEISLER, D.H. Leptin concentrations in peri-parturient ewes and their subsequent offspring. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 738–743, 2002.

MELVIN, E.J.; LIDSEY, B.R.; QUINTAL FRANCO, J.; ZANELLA, E.; FIKE, K.E.; VAN TASSEL, C.P.; KINDER, J.E. Circulating concentrations of estradiol, LH and

FSH during waves of ovarian follicular development in prepubertal cattle. **Biology of Reproduction**, v.60, p. 405-412, 1999.

MORAES, J.C.F.; JAUME, C.M.; SOUZA, C.J.H. Manejo reprodutivo da vaca de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.160-166, 2007.

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

MOSSA, F.; KENNY, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; SMITH, G.W.; BERRY, D.; BUTLER, S.; FAIR, T.; LONERGAN, P.; IRELAND, J.J.; EVANS, A.C.O. Undernutrition of heifers during the first trimester of pregnancy diminishes size of the ovarian reserve in female offspring. **42nd Annual Meeting of the Society for Study of Reproduction**, v. abstract 135. Pittsburg, PA, p. 77, 2009.

NAKADA, K.; MORIYOSHI, M.; NAKAO, T.; WATANABE, G.; TAYA, K. Changes in concentrations of plasma immunoreactive follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, estradiol-17 β , testosterone, progesterone and inhibin in heifers from birth to puberty. **Domestic Animal Endocrinology**, v.18, p. 57-69, 2000.

NICODEMO, M.L.F.; MORAES, S.S.; S'THIAGO, L.R.L.; MACEDO, M. C. M.; CAXIAS, E. L.; NOGUEIRA, E.; VIEIRA, J. M.; VAZ, E. C. Desempenho de vacas jovens nelore em pastagens de *Brachiaria brizantha* suplementadas ou não com fósforo/cálcio e ração durante a seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33 (Suplemento 2), n.6, p.2151-2160, 2004.

NOGUEIRA, E.; MORAIS, M.G.; ANDRADE, V.J.; ROCHA, E.D.S.; SILVA, A.S.; BRITO, A.T. Efeito do *creep feeding* sobre o desempenho de bezerros e a eficiência reprodutiva de primíparas Nelore em pastejo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 607-613, 2006.

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

NOGUEIRA, G.P.; BARNABE, R.C.; VERRESCHI, I.T.N. Puberty and growth rate in thoroughbred fillies. **Theriogenology**, v. 48, p. 581-588, 1997.

NOGUEIRA, G. P.; de LUCIA, R.F.S.; PEREIRA, F.V.; CIRILO, P.D.R. Precocious fertility in Nelore heifers. **Biology of Reproduction**, v. 68 (S1), p. 382, 2003.

NOGUEIRA, G.P.; GINTHER, O.J. Dynamics of follicle populations and gonadotropin concentrations in fillies age two to ten months. **Equine Veterinary Journal**, v.32, p. 482-488, 2000.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (EDS). **Nutrição de Ruminantes**. 1 Ed., p. 183-228, 2006.

O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.68, p. 299-314, 1999.

OLIVEIRA, C.M.G.; OLIVEIRA FILHO, B.D.; GAMBARINI, M.L.; VIU, M.A.O.; LOPES, D.T.; SOUSA, A.P.F. Effects of biostimulation and nutritional supplementation on pubertal age and pregnancy rates of Nelore heifers (*Bos indicus*) in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, v.113, p. 38–43, 2009.

OLIVER, P.; PICO, C.; De MATTEIS, R.; CINTI, S.; PALOU, A. Peri-natal expression of leptin in rat stomach. **Development Dynamics**, v. 223, p. 148–54, 2002.

PAIVA, F.A.; NEGRÃO, J.A.; BUENO, A.R.; SARAN-NETTO, A.; LIMA, C.G. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerros Holandeses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.739-743, 2006.

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

PEREIRA, J.C.C. Contribuição genética do Zebu na pecuária bovina do Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 21, p. 30-38, 2000.

PERRY, G. A. Harnessing basic knowledge of factors controlling puberty to improve synchronization of estrus and fertility in heifers. **Journal Animal Science**, v. 90, p. 1172–1182, 2012.

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

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology**, v. 21, p. 495-504, 1984.

PLADYS, P.; ARSENAULT, J.; REIX, P.; LAFOND, J.R.; MOREAU-BUSSIÈRE, F.; PRAUD, J.P. Influence of prematurity on postnatal maturation of heart rate and arterial pressure responses to hypoxia in lambs. **Neonatology**, v. 93, p. 197-205, 2008.

PORTO, M.O.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; SALES, M.F.L.; COUTO, V.R.M. Fontes de energia em suplementos múltiplos para bezerros Nelores em creep-feeding: desempenho produtivo, consumo e digestibilidade dos nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1329-1339, 2009.

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

RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C. O.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P. M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 259-270, 2003.

REIS, R.A.; BERTIPLAGLIA, L.M.A.; MELO, G.M.P.; FREITAS, D.; BALSALOBRE, M. Suplementação proteico-energética e mineral em sistemas de produção de gado de corte nas águas e nas secas. In: Simpósio sobre Pecuária de Corte Intensiva nos Trópicos. Piracicaba, 2004. **Anais...**, FEALQ, Piracicaba, p. 171-226. 2004.

REIS, R.A.; de MELO, G.M.P.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; OLIVEIRA, A.P. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; OLIVEIRA, A.P.; DE MELO, G.M.P.; BERNARDES, T.F. (Eds). *Volumosos na Produção de Ruminantes*. Jaboticabal, v. 2, 2005. **Anais...** Jaboticabal: Funep, p. 25-60. 2005.

REIS, R.A.; RUGGIERI, A.C.; CASAGRANDE, D.R.; PÁSCOA, A.G. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38 (supl. especial), p.147-159, 2009.

RENTSCH, J.; CHIESI, M. Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. **FEBS Letters**, v. 379, p. 655-659, 1996.

RESTLE, J.; POLLI, V.A.; SENNA, D.R. Efeito do grupo genético e heterose sobre a idade e peso a puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 701-707, 1999.

RIGOLON, L.P.; PRADO, I.N.; CAVALIERI, F.L.B.; NASCIMENTO, W.G.; COPOVILA, L.C.; RAMOS, F.S.; MOREIRA, F.B. Effect of the dry matter intake level on the sanguine profile of glucose, insulin, urea, estrogen and progesterone and concentration of IGF-I in the follicular liquid of crossbred heifers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.1, p. 61-68, 2009.

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

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

SARTORI, R.; BARROS, C.M.; Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.124, p. 244–250, 2011.

SARTORI, R.; BASTOS, M.; BARUSELLI, P.; GIMENES, L.; ERENO, R.; BARROS, C. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v. 67, p. 357-375, 2010.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J.; SHAVER, R.; ROSA, G.; WILTBANK, M. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 905-20, 2004.

SARTORI, R.; MOLLO, M.R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.197-204, 2007.

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

SCHAMS, D.; SCHALLENBERGER, E.; GOME, S.; KARG, H. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Supplement 30, p.103-110, 1981.

SCHILLO, K.K.; DIERSCHKE, O.J.; HAUSER, E.R. Influences of month of birth and age on patterns of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v. 18, p.593-598, 1982.

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

SCHULER, G.; GREVEN, H.; KOWALEWSKI, M.P.; DÖRING, B.; OZALP, G.R.; HOFFMANN, B. Placental steroids in cattle: hormones, placental growth factors or by-products of trophoblast giant cell differentiation? **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 116, p.429-36, 2008.

SHUPNIK, M.A. Gonadotropin gene modulation by steroids and gonadotropin-releasing hormone. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 279-286, 1996.

SILOTO, L.S. **Comparação entre a população folicular ovariana antral e pré-antral de fêmeas *Bos indicus* e $\frac{1}{2}$ *Bos indicus* x *Bos taurus*** 2012. 41f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias. Londrina, 2012.

SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; SILOTO, L.S.; HERTEL, M.F.; ANDRADE, E.R.; RUBIN, M.I.B.; STURION, L.; STERZA, F.A.M.; SENEDA, M.M. Estimate of the population of pré-antral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* female. **Theriogenology**, v.76, p. 1051-1057, 2001.

SILVER, M.; OUSEY, J.; DUDAN, F.E.; FOWDEN, A.L.; KNOX, J.; ASH, R.S.G.; ROSEDALE, D. Studies on equine prematurity 2: post natal adrenocortical activity in relation to plasma adrenocorticotrophic hormone and catecmine levels in term and premature foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, p. 278-286, 1984.

SINCLAIR, K.D.; KURAN, M.; GEBBIE, F.E.; WEBB, R.; Mc EVOY, T.G. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers

offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2670-2680, 2000.

SOUZA, E.M.; MILAGRES, J.C.; SILVA, M.A.; Regazzi, A.J.; Castro, A.G.C. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista Sociedade Brasileira Zootecnia**. v.24; p.926-935, 1995.

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

SULLIVAN, T.M.; MICKE, G.C.; GREER, R.M.; IRVING-RODGERS, H.F.; RODGERS, R.J.; PERRY, V.E. Dietary manipulation of *Bos indicus* x heifers during gestation affects the reproductive development of their heifer calves. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 21, p. 773–784, 2009.

TERASAWA, E.; FERNANDEZ, D.L. Neurobiological mechanisms of the onset of primates. **Endocrine Reviews**, v.22, p. 111-151, 2001.

TOWNSON, D.H.; TSANG, P.C.; BUTLER, W.R.; FRAJBLAT, M.; GRIEL, L.C.; JOHNSON, C.J.; MILVAE, R.A.; NIKSIC, G.M.; PATE, J.L. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1053-1058, 2002.

WALKER, D.M.; KIRSON, D.; PEREZ, L.F.; GORE, A.C. Molecular profiling of postnatal development of the hypothalamus in female and male rats. **Biology of Reproduction**, v. 87 p. 1-12, 2012.

WILLIAMS, G.L.; AMSTALDEN, M. Understanding postpartum anestrus and puberty in the beef female. **Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle**, p. 55–71. 2010.

WILTBank, J. N.; KASSON, C. W.; INGALLS, J. E. Puberty in crossbred and straight bred beef heifers on two levels of feed. **Journal of Animal Science**, v.29, p.602-605, 1969.

WOOD, C. E. Control of parturition in ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.115-126, 1999.

WYLIE, A. R. G. Leptin in farm animals: Where are we and where can we go? **Animal** v. 5, p. 246–247, 2010.

XU, Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W.; SMITH, M.F.; HAMILTON, S.A.; YOUNGQUIST, R.S. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 951-957, 1995.

YELICH J.V., WETTEMANN R.P., MARSTON T.T., SPICER L.J. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 13, n. 4, p. 325-338, 1996.

ZAMORANO, P.L.; MAHESH, V.B.; DESEVILLA, L.M.; CHORICH, L.P.; BHAT, G.K.; BRANN, D. Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. **Neuroendocrinology**, v.65, p. 223-228, 1997.

ZANKER, I. A.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Delayed feeding of first colostrum: are there prolonged effects on hematological, metabolic and endocrine parameters and on growth performance in calves? **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.85, p. 53-66, 2001.

ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M.; MORTON, S.; GALLINO, J.L; EDWARDS, J.F.; HARMS, P.G.; WILLIAMS, G.L. Effects of leptin on basal and GHRH-stimulated GH secretion from the bovine adenohypophysis are dependent upon nutritional status. **Journal of Endocrinology**, v. 178, p.83-89, 2003.

ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M.; MORTON, S.; MACIEL, M.N.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, G.L. Regulatory roles of leptin at the hypothalamic-hypophyseal axis before and after sexual maturation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 804-812, 2004.