RAFAEL SILVA CIPRIANO

**Influência da adição de gordura protegida na dieta de novilhas
Nelore (*Bos taurus indicus*) no estabelecimento da puberdade
e da ciclicidade pós-parto.**

**São Paulo
2013**

RAFAEL SILVA CIPRIANO

**Influência da adição de gordura protegida na dieta de novilhas Nelore
(*Bos taurus indicus*) no estabelecimento da puberdade
e da ciclicidade pós-parto.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em **Reprodução Animal** da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. **Guilherme de Paula Nogueira**

De acordo: _____

Orientador

São Paulo

2013

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2747
FMVZ

Cipriano, Rafael Silva
Influência da adição de gordura protegida na dieta de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*)
no estabelecimento da puberdade e da ciclicidade pós-parto / Rafael Silva Cipriano. -- 2013.
132 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2013.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira.

1. Puberdade. 2. Energia. 3. Gordura. 4. Pós-parto. 5. Ovulação. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência da adição de gordura protegida no estabelecimento da puberdade de novilhas Nelore e na ciclicidade pós-parto", protocolado sob o nº1463/2008, utilizando 30 (trinta) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira (Unesp-Araçatuba), está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 01/10/08.

We certify that the Research "Influence of the protected fat supplement in Nelore heifers puberty and pos-partum ciclicity", utilizing 30 (thirty) bovines, protocol number 1463/2008, under the responsibility Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/01/08.

São Paulo, 02 de outubro de 2008

Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CIPRIANO, Rafael Silva

Título: Influência da adição de gordura protegida na dieta de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) no estabelecimento da puberdade e da ciclicidade pós-parto.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

À Deus, por ter me ajudado nos momentos mais difíceis de minha caminhada durante o doutorado.

A minha mãe Margarete, minha irmã Ana Luiza e meu padrasto Flávio que sempre me apoiaram e se dedicaram para tornar esse sonho uma realidade.

Ao meu saudoso pai

Vocês sempre estiveram presentes, me apoiando e dando força nos momentos de dificuldade. Fizeram-me crescer e formar o homem que hoje sou. Reconheço que por vocês e com vocês, conquistei esse objetivo. E que sem vocês não seria possível terminar mais essa etapa de minha vida.

DEDICO

Aos meus familiares e minha namorada, que muito me ajudaram e torceram pela conclusão de mais esta conquista.

OFEREÇO

“[...] nada é fixo para aquele que alternadamente pensa e sonha [...]”.

(GastonBachelard)

AGRADECIMENTOS

Se escrevo essa tese é porque muitas pessoas e animais dedicaram boa parte de suas vidas para que tudo que estava escrito em um pedaço de papel torna-se esta realidade que hoje aqui se encontra. E agradecer, me deixa feliz, pois sei que este apoio de várias pessoas, veio do coração de cada uma delas e do sentimento verdadeiro que estas tem comigo. Assim eu agradeço...

À Deus por ter me criado e acompanhado por todos estes anos, trazendo para mim pessoas de bom caráter e uma família muito especial.

Ao professor Prof. Guilherme de Paula Nogueira, pela dedicação, orientação, confiança, paciência e amizade durante essa caminhada. Seus conselhos sempre bem vindos e no momento correto deu rumo a este trabalho. Exemplo de competência, trabalho, honestidade, ética e companheirismo. Por ensinar-me como ser um bom profissional, professor e pesquisador. Além de ser um grande amigo que me confiou parte de seus trabalhos e vida. Muito obrigado mesmo Guilherme.

À toda a minha família que de uma forma ou de outra fizeram parte da minha vida ajudando a formar meu caráter e sempre me apoiaram nesta caminhada, e me ajudaram nos momentos de dificuldade.

À Beatriz Caetano da Silva Leão, por me dar apoio e palavras de incentivo nos momentos difíceis. E por ser companheira, amiga e confidente não somente na minha vida profissional, mas também pessoal.

Ao departamento de Reprodução Animal (VRA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, que de uma forma acolhedora me auxiliou a realizar mais esta etapa da minha vida profissional, fazendo-me sentir em casa.

A Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Campus Araçatuba, por proporcionar a realização deste trabalho em suas dependências e me acolher como aluno da instituição nos momentos que precisei, onde fiz meu mestrado e aprendi muito com os professores.

Aos professores do Departamento de Reprodução Animal que me acolheram e não mediram esforços para passar seus conhecimentos. Em especial ao Prof. Pietro Sampaio Baruselli (O Pietrão), que me aceitou como

orientado no começo do doutorado, pela ajuda nas correções do meu trabalho de qualificação e ensinamentos em sala de aula, conversas de corredor e em outros locais, obrigado pela grande ajuda. A Profa. Mayra Elena Ortiz D'Ávila Assumpção, quem me acolheu no VRA mesmo quando ainda não estava matriculado, Mayra não me esqueço daquele simpósio em Pirassununga que você me fez sentir-me em casa, obrigado! Ao Prof. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, Prof. Cláudio Alvarenga de Oliveira, Prof. Mário Binelli, Prof. Ed Hoffmann Madureira, Profa. Annelise de Souza Traldi, Prof. Ricardo José Garcia Pereira, Prof. Rubens Paes de Arruda e Profa. Camila Infantosi Vannucchi. Todos eles de alguma forma contribuíram para minha formação e conhecimento.

Ao Dr. Michael Lee Day (Okie from Muskogee, Irish), que me orientou nas análises dos dados, e me acolheu em Columbus–Ohio (EUA). Sua simplicidade, dedicação, responsabilidade e amizade jamais esquecerei.

A Profa. Dra. Silvia Venturoli, por tirar minhas dúvidas na realização das análises estatísticas.

A Devani Mariano Pinheiro, técnica do laboratório, que realizou os ensaios hormonais deste trabalho. Minha amiga e conselheira nos momentos difíceis. Após todos estes anos de convivência acredito que foi uma das pessoas decisivas na minha vida, foi mãe, amiga, psicóloga e companheira de trabalho SEMPRE quando precisei. Amo você VISTOSONA!!!

Ao Rogério Costa (Êxito Rural), que me ajudou com toda a nutrição dos animais, assim como as dúvidas nas análises bromatológicas e manejo nutricional, se tornou um grande amigo e companheiro de degustação de cachaça.

Aos Profs. Cecílio Viegas e Hamilton Caetano, ambos da FMVA/UNESP-Campus Araçatuba, por me cederem o laboratório para a realização das análises bromatológicas.

Ao Carlos, técnico do Laboratório de análises bromatológicas da FMVA/UNESP-Campus Araçatuba, por realizar as análises das amostras domeu experimento.

Ao amigo, companheiro de república e de “Tereré” Leandro Pavanello, o “13”, que me acolheu em sua casa, juntamente com nosso amigo Guga Rocco

Kuerten. Agradeço a você por esses anos de convivência, amizade e companheirismo.

Aos amigos do Laboratório de Endocrinologia Animal, Carolina, Heni, David, Thiago, Douglas, Alan, Narian, Giuliana, Eduardo, Jefferson, Bruno, Sarita, Emiliana (VRA também), Anivaldo, Juliana, Daiene, Pedro, Walter, Karoline, Tamiris, Paulo, Tomaz, Danilo, Julio e João. Sem a ajuda de vocês este trabalho não seria realizado.

Aos amigos Fernando Lobo (Chico) e Flávio Lobo (Buchudão), que colaboraram com o manejo, doma e alimentação dos animais durante todo experimento.

Aos amigos Daniel Cardoso de Oliveira, Maria Paula Beltran e Anivaldo Olivio Corte Jr., companheiros de laboratório que colaboraram de alguma forma para este trabalho.

Ao amigo Guilherme Cazerta Lemos que sempre me aconselhou nas minhas dúvidas e tomadas de decisões, além de sempre estar disposto a ser meu companheiro de tereré.

Aos amigos do VRA que foram importantes para que eu conseguisse completar a caminhada até a defesa. Agradeço aos amigos: Manoel, pelas discussões saudáveis e produtivas nos corredores do VRA e por onde nos encontrávamos; Everton (grande parceiro de churrascos), Júlia, Henderson, Roberta, José Nélio, Kedson, Rodrigo, Thais, Paulo, Mirtão, José Rodrigo, Francisco, Rodriguinho (também de Araçatuba) e Robinson.

À minha querida amiga Harumi Shiraishi por sanar minhas enormes dúvidas com relação à burocracia dos papéis, por vários favores cedidos e pelo grande esforço que fez para eu poder entrar no doutorado no VRA, sem ela não conseguiria finalizar mais esta etapa da minha vida.

À Fazenda Santa Terezinha onde adquirimos os animais para o experimento.

À todas as empresas e seus respectivos funcionários por financiarem meus experimentos, em especial a OUROFINO Saúde Animal, na pessoa de Evandro D'avanço (grande amigo e companheiro de noites de coletas seriadas de sangue), ao Denis Alves (MSD Saúde Animal), a Catarina Lopes (Arm & Hammer) e ao Reuel Gonçalves (Biogênese-Bagó).

À bibliotecária Elza Faquim, por me atender com o maior bom humor do mundo e deixar minha tese padronizada e dentro das normais. Às secretárias de pós-graduação Cláudia, Daura, Marli e Deyse por me ajudarem e serem cordiais durante o processo de depósito de minha tese.

Aos órgãos de fomento FAPESP e CAPES, que me proporcionou auxílio financeiro através do fornecimento de bolsa e auxílio pesquisa, sem eles não seria possível ter a dedicação a este trabalho e a UNESP por ceder sua infraestrutura, funcionários e máquinas.

Aos funcionários da FMVA/UNESP-Campus Araçatuba, Cal, Laércio e Carlos, por me auxiliarem sempre que precisei.

Aos meus verdadeiros e velhos amigos de São José dos Campos Tiagueira, Julião, Alexandre (Quik) e Pudim por momentos de muita felicidade em que passamos juntos e me apoiaram em todos os momentos difíceis da minha vida.

E à todos os meus amigos que conquistei nesta vida.

RESUMO

CIPRIANO, R. S. **Influência da adição de gordura protegida na dieta de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) no estabelecimento da puberdade e da ciclicidade pós-parto.** [Influence of addition of protected fat in the diet of Nellore heifers (*Bos taurus indicus*) in the establishment of puberty and cyclicity postpartum]. 2013. 131 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

O presente trabalho teve como objetivo verificar se o fornecimento de gordura protegida após a desmama interfere no desenvolvimento folicular e na idade à primeira ovulação em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*). E também se os ácidos graxos de cadeia longa no terço final da gestação interferem no desenvolvimento folicular e antecipa a ciclicidade no período pós-parto de primíparas com escore corporal de 2,5. No primeiro utilizamos 30 novilhas Nelore com peso 167kg, separadas em 3 grupos: Grupo Controle (GC, n=10) recebeu 500g de milho/animal/dia. Grupo Gordura (GG, n=10) recebeu 200g de gordura protegida/animal/dia. Grupo Energia (GE, n=10) recebeu 500g de milho e 200g de Megalac-E[®]/animal/dia. Foi realizado exame ultrassonográfico dos ovários e colhidas amostras de sangue para quantificação de FSH, LH, leptina e progesterona. Durante o tratamento o peso não variou entre os grupos, o peso vivo aumentou ao longo do tempo ($p=0,0001$). Após a mudança na dieta, os animais dos grupos que receberam gordura apresentaram menor ($p=0,019$) número de folículos que os animais do GC. Durante o período dos tratamentos nutricionais o GG apresentou maior ($p=0,05$) número de picos de LH que o GE e o GC foi intermediário. O GC apresentou maior área de secreção de FSH ($p=0,03$) quando comparado ao GG e o GE foi intermediário. O GC apresentou maior área de concentração e valor máximo máxima de FSH ($p=0,06$) aos 14 meses. Dentro de cada grupo, todos apresentaram menor área total de secreção de leptina antes do tratamento comparado ao período pós tratamento. Após o período de tratamento, o GE apresentou maior valor máximo máxima de leptina ($p=0,08$) que o GC e o GG valor intermediário. A gordura diminuiu o número de folículos, aumentou a frequência de pulsos de LH, diminuiu a secreção de FSH durante o começo da suplementação. A dieta com a soma das energias diminuiu a área de secreção de LH e aumentou a valor máximo máxima de concentração de leptina. No segundo experimento

utilizamos 19 animais, com 24 a 27 meses de idade e peso de 366kg. Os tratamentos nutricionais foram realizados de 50 a 60 dias antes do parto previsto. As novilhas foram divididas em dois grupos: grupo Controle (GC, n=9) sem adição de gordura na ração (250 g de milho/novilha/dia) e grupo Gordura (GG, n=10) com gordura na ração (100g Megalac-E[®]/novilha/dia). Os animais foram mantidos em um escore corporal de 3,5 no período pré-parto, e diminuíram e foram mantidos com 2,5 até os noventa dias após parto. O GC obteve maior ganho médio diário dos 91 aos 119 dias pós-parto ($p=0,011$) comparado ao GG. O peso à ovulação foi maior no GC que no GG ($p=0,03$). O diâmetro do maior folículo não diferiu ($p=0,31$) entre o GC e GG durante o pós-parto. O diâmetro do segundo maior folículo foi maior no GC ($p=0,028$) que no GG. Houve um aumento no diâmetro do maior folículo no GC ($p=0,05$) e uma tendência no GG. Os dois grupos apresentaram aumento na concentração de LH com o passar dos intervalos (GC $p<0,0001$, GG $p=0,0024$). Entre o 15° e 30° dia pós-parto foi o período que apresentou menor área total de concentração de LH ($p<0,0001$) comparado aos demais intervalos dentro de cada grupo ($p=0,85$). GC e GG tiveram maior valor máximo de LH no intervalo de 75 a 90 dias ($p=0,03$ e $p=0,04$) quando comparado com os intervalos de 15 a 30 e de 30 a 45 dias pós-parto ($p=0,97$). Não houve diferença no peso vivo ao nascimento das bezerras do GC ($34,3\pm 2,58$ kg, $p=0,18$) comparado as do GG no período pré-parto ($31,75\pm 4,62$ kg). As bezerras nascidas de vacas do GC obtiveram maior ganho médio diário nos primeiros 30 dias pós-parto ($p=0,05$) comparadas às bezerras do GG. Não houve diferença no ganho de peso por mamada das bezerras entre os GC e GG no período pós-parto, aos 20 dias ($p=0,30$), aos 46 dias ($p=0,46$), aos 81 dias ($p=0,63$) e aos 108 dias ($p=0,66$). Animais tratados com gordura no pré-parto apresentam um maior tempo para a primeira ovulação, menor quantidade de folículos secundários, acompanhada de menor peso vivo e menor ganho de peso no final do pós-parto.

Palavras-chave: Puberdade. Energia. Gordura. Pós-parto. Ovulação.

ABSTRACT

CIPRIANO, R. S. **Influence of addition of protected fat in the diet of Nelore heifers (*Bos taurus indicus*) in the establishment of puberty and cyclicity postpartum.** [Influência da adição de gordura protegida na dieta de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) no estabelecimento da puberdade e da ciclicidade pós-parto]. 2013. 131 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

This study evaluated whether protected fat supply after weaning will interfere on follicular development and age at first ovulation in Nelore heifers (*Bos taurus indicus*) and if fat in the final third of pregnancy increases the preovulatory follicle diameter and number of follicles, changing the cyclicity in postpartum primiparous with a body score of 2.5. For this two experiments were developed, at first 30 contemporary Nelore heifers with of 167 kg live weight were used. The animals were sorted into 3 groups: Control group (CG, n=10), 500g of corn/animal/day. Fat group (GG, n=10), 200g of Megalac-E[®]/animal/day. Energy group (EG, n=10), 500g of corn plus 200g Megalac-E[®]/animal/day. Ovaries ultrasonography was performed to characterize the diameter and number of follicles. Blood samples were collected and radioimmunoassay was performed to quantify LH, FSH, progesterone and leptin. Either during nutritional treatment (p=0.32) or after (p=0.34) there was no difference in life weight between groups, but weight increased over time (p=0.0001). Heifers that received fat had lower (p=0.02) number of follicles than the control group. During nutritional treatments Fat group had higher (p=0.05) number of LH peaks than the Energy group and Control group showed intermediate number of LH peaks. The GC showed greater FSH concentration area (p=0.03) compared to GG and GE was intermediate. The GC had higher FSH concentration area (p=0.06) and maximum valor máximo (p=0.08), than GG and GE had intermediate values at 14 months. All groups exhibited lower leptin total concentration area before compared to after nutritional treatments. After the treatment period, the GE had higher leptin maximum value (p=0.08) than control group and GG intermediate. Fat supply decreased the number of follicles, increased LH pulses frequency, decreased FSH concentration at the supplementation beginning. Energy energy diet anticipated age at puberty, decreased LH concentration area and increased leptin concentration maximum

value. For the second experiment 19 animals between 24 and 27 months of age and 366kg live weight were used, fixed time artificial insemination was performed (TAI). The dietary treatments were performed during 60 days before the estimated partum. The heifers were sorted in: Control (CG, n = 9) with no added fat (250 g of corn/heifer/day) and fat group (GG, n = 10) with 100 g Megalac-E®/heifer/day. The animals were maintained in a 3.5 BSC (1 to 5) during pre-partum, and decreased and maintained with 2.5 BSC until 90 days after calving. The GC had a higher average daily weight gain from 91 to 119 days postpartum ($p=0.011$) compared to GG. The weight at ovulation was higher in GC ($p=0.03$) than GG. Largest follicle diameter did not differ ($p=0.31$) between the CG and GG during the postpartum period. Second largest follicle diameter was greater in the GC ($p=0.028$) than in GG. There was an increase in the largest follicle diameter in CG ($p=0.05$) and a tendency in GG during the experimental period. Both groups showed an increase in LH concentration over the intervals ($p<0.0001$; $p=0.0024$). Between the 15th and 30th day postpartum there was the lowest LH concentration total area ($p<0.0001$) compared to other intervals within each group. LH maximum value was greater ($p=0.03$ and $p=0.04$) between 75 to 90 days compared to 15-30 and 30-45 days postpartum. There was no difference in calves birth weight between GC and GG ($p=0.18$). Calves born from GC cows had greater average daily weight gain in the first 30 days ($p=0.05$) than calves from GG. There was no difference in weight gain after 15 min suckling between GC and GG calves at 20, 46 days, 81 and at 108 days. Heifers treated with fat in pre-partum have an increased time to first ovulation, fewer secondary follicles, accompanied by a lower body weight and less weight gain in the end of postpartum.

Keywords: Puberty. Energy. Fat. Postpartum. Ovulation

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Variação do peso vivo (média±SD) em função da idade média dos animais em dias, em novilhas Nelore pré-púberes durante adaptação, recebendo três dietas diferentes (entre linhas): Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10) Período (a) se refere à doma (288 a 329 dias de idade); (b) a adaptação da dieta (329 a 401 dias de idade); (c) período de tratamento nutricional (401 a 493 dias de idade) e (d) período pós tratamento (493 a 605 dias de idade).....58
- Figura 2 - Variação do ganho médio diário (média±SD), em novilhas Nelore pré-púberes antes, durante e após o fornecimento das três dietas diferenciadas: Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10).....58
- Figura 3 - Variação no diâmetro do maior folículo (média±SD) em função da idade média em novilhas Nelore pré-púberes durante 17 dias (a cada 24 horas) e a cada 4 dias antes, durante e após o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10). As mensurações começaram 15 (a) e 60 (b) dias após o início da dieta.....60
- Figura 4 - Variação no número de folículos (média±SD) em função da idade média em novilhas Nelore pré-púberes durante 17 dias (a cada 24 horas) e a cada 4 dias antes, durante e após o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10). As mensurações começaram 15 (a) e 60 (b) dias após o início da dieta.....61
- Figura 5 - Variação na concentração de LH plasmático (média ± SD de amostras colhidas a cada 4 dias) em novilhas Nelore pré-púberes antes (9,6 a 13,6 meses de idade) e durante (13,6 a 16,5 meses de idade) o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (n=9, 500g milho), Gordura (n=8, mais 200g gordura protegida) e Energia (n=8, gordura mais 500g milho).....63
- Figura 6 - Variação na concentração de LH plasmático (média ± SD de amostras colhidas a cada 4 dias) em novilhas Nelore pré-púberes durante todo o período (total), antes, durante e após o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (n=9, 500g milho), Gordura (n=8, mais 200g gordura protegida) e Energia (n=8, gordura mais 500g milho) (A, Área total de secreção de LH; B, Valor máximo de secreção de LH).....64
- Figura 7 - Variação na concentração de LH plasmático (média ± SD) em novilhas Nelore pré-púberes durante dois períodos de 17 dias (a cada 24 horas) (a) 15 dias ou (b) 60 dias após o início da dieta: Controle (n=9, 500g milho), Gordura (n=8, com adição de 200g gordura protegida) e Energia (n=8, com gordura mais 500g milho).....65
- Figura 8 - Variação na concentração de LH plasmático (média ± SD) em amostras coletadas a cada 20 min por 12 h de novilhas Nelore pré-púberes na fase de adaptação e pré-experimental (com 12 e 13 meses de idade), recebendo três dietas diferentes (com 15 e 16 meses de idade): Controle (500g milho, antes: n=4, durante: n=4), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, antes: n=4, durante: n=4) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, antes: n=4, durante: n=4) e após o fim da suplementação (16 meses).....66

- Figura 9 - Variação na concentração de FSH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 24hs por 17 dias de novilhas Nelore pré-púberes antes (10 e 12 meses de idade) e recebendo três dietas diferentes (14 e 16 meses de idade): Controle (500g milho, n=8), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=8) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, n=8).....68
- Figura 10 - Variação na área Total de concentração de FSH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 24hs por 17 dias de novilhas Nelore pré-púberes antes (10 e 12 meses de idade, A) e recebendo três dietas diferentes (14 e 16 meses de idade, B): Controle (500g milho, n=8), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=8) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, n=8).....68
- Figura 11 - Variação na valor máxima de FSH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 24hs por 17 dias de novilhas Nelore pré-púberes antes (10 e 12 meses de idade, A) e recebendo três dietas diferentes (14 e 16 meses de idade, B): Controle (500g milho, n=8), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=8) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, n=8).....69
- Figura 12 - Variação na concentração de leptina plasmática (média $\pm$ SD) em novilhas Neloires pré-púberes na fase pré-experimental (com 12,5 meses), recebendo três dietas diferentes (de 13 a 16 meses): Controle (500g milho, antes e durante, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, antes e durante, n=10) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, antes e durante, n=10) e após o fim da suplementação (17 a 19,6 meses de idade) (período representado entre as setas correspondente ao período que foram oferecidos os tratamentos nutricionais).....71
- Figura 13 - Variação área total de concentração e valor máxima de leptina plasmática (média $\pm$ SD) em novilhas Neloires pré-púberes na fase pré-experimental (antes, com 12,5 meses), recebendo três dietas diferentes (durante, de 13 a 16 meses): Controle (500g milho, antes e durante, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, antes e durante, n=10) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, antes e durante, n=10) e após o fim da suplementação (17 a 19,6 meses de idade).....72
- Figura 14 - Progressão das ovulações de acordo com a idade e porcentagem total de novilhas ovuladas nos grupos Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10) até os 20 meses.....73
- Figura 15 - Variação do peso vivo (média $\pm$ SD) em vacas Nelore primíparas durante o tratamento no pré-parto (Controle com 250g/dia milho, n=8; Gordura, 250g milho mais 100g gordura protegida/dia, n=10) e após o parto.....100
- Figura 16 - Variação do Ganho médio diário (média $\pm$ SD) em vacas Nelore primíparas durante o tratamento no pré-parto (Controle com 250g/dia milho, n=8; Gordura, 250g milho mais 100g gordura protegida/dia, n=10, Total, nos 30 e 70 dias pré-parto, gráfico A) e após o parto (Total, com 28, 63, 91 e 119 dias pós-parto, gráfico B).....100
- Figura 17 - Variação do percentual acumulativo da primeira ovulação no pós-parto em vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) e Gordura (250g milho e 100g gordura protegida/dia, n=10).....101
- Figura 18 - Variação na ingestão média de proteína bruta (kg/dia), na ingestão de matéria seca (kg/dia) e na ingestão de matéria seca em relação ao peso vivo (%) (média $\pm$ SD) em vacas Nelore primíparas durante o tratamento no pré-parto (Controle com 250g/dia milho, n=8; Gordura, 100g gordura protegida/dia, n=10).....101

- Figura 19 - Variação média diária do número de folículos (maiores que 3 mm), diâmetro do maior e do segundo maior folículo (média±SD) e número de ondas (até 90 dias) no pós parto em vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=10)..103
- Figura 20 - Variação da concentração de LH (média±SD) no período pós-parto em vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=10). Entre os 15 e os 90 dias as amostras foram coletadas a cada 24 horas e entre 91 e 120 dias a cada 4 dias. Gráfico A: concentração total de LH durante todo o período experimental e gráfico B concentração de LH dividida em intervalos de 30 dias.....105
- Figura 21 - Variação da área total e valor máximo de secreção de LH (média±SD) entre os 15 e 90 dias pós-parto em amostras coletadas a cada 24 horas de vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=10),(letras minúsculas representam a diferença entre os intervalos quinzenais dentro de cada grupos.106
- Figura 22 - Variação do peso ao nascimento (Gráfico A), peso médio durante o experimento (Gráfico B) e ganho médio diário durante o experimento e divididos em intervalos de 30 dias (Gráfico C) das bezerras (média±SD) no período pós-parto (total, 30, 60, 90 e 120 dias) nascidas de vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=10).....107
- Figura 23 - Variação do ganho de peso por mamada das bezerras (média±SD) no período pós-parto (20, 46, 81 e 108 dias) nascidas de vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=10).....108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas fornecidas durante a fase de tratamento.....	50
Tabela 2 - Composição das dietas fornecidas durante a fase de tratamento (níveis de garantia).....	50
Tabela 3 - Porcentagem os principais ácidos graxos encontrados na gordura protegida (Megalac-E®) fornecida na dieta dos grupos Gordura (n=10, 250g/animal/dia) e Energia (n=10, 250g/animal/dia mais 500g de milho) durante o período de tratamento nutricional (401 a 493 dias de idade).....	51
Tabela 4 - Composição das dietas fornecidas durante o pré-parto.....	94
Tabela 5 - Composição das dietas fornecidas durante o pré-parto (níveis de garantia).....	94

LISTA DE SIGLAS

%	Porcentagem
μl	Microlitros
μg	Microgramas
°C	Graus Celsius
AGCL	Ácidos graxos de cadeia longa
Ca ⁺⁺	Sais de cálcio
CL	Corpo lúteo
cm	Centímetro
CV	Coeficiente de variação
d	Dias
E2	Estrógeno
ECC	Escore de condição corporal
EM	Energia metabolizável
FSH	Hormônio folículo estimulante
FMVA	Faculdade de medicina veterinária de Araçatuba
g	Grama
GA	Galges
GC	Grupo controle
GG	Grupo gordura
GE	Grupo Energia
GMD	Ganho médio diário
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
h	Horas
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF	Hormônio do crescimento semelhante à insulina
IM	Intramuscular
IMS	Ingestão de matéria seca
IPB	Ingestão de proteína bruta
Kg	kilograma
LH	Hormônio luteinizante

mg	Miligramma
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
MJ	MegaJoule
MHz	Megahertz
MS	Matéria seca
n	Número de unidades experimentais
n-3	Omega 3
n-6	Omega 6
NaCl	Cloreto de sódio
ng	nanograma
NPY	neuropeptideo Y
NRC	Nutrient requirements of dairy cattle
OPG	Contagem de ovos por grama de fezes
P	Probabilidade
P4	Progesterona
PB	Proteína bruta
PGF2 α	Prostaglandina F 2 alfa
Prism	Prisma, programa estatístico
PV	Peso vivo
R ²	Coeficiente de determinação
RIA	radioimunoensaio
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
STAR	Proteína esteroidogênica reguladora aguda
UI	Unidade internacional
UNESP	Universidade estadual paulista

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	HIPÓTESE	26
3	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVO GERAL	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4	REVISÃO DE LITERATURA	29
4.1	PUBERDADE EM FÊMEAS BOVINAS	29
4.2	IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO NA REPRODUÇÃO E SUPLEMENTAÇÃO DE GORDURA PARA NOVILHAS NO PERÍODO PERI-PÚBERE	30
4.3	MENEJO NUTRICIONAL E REPRODUTIVO DE FÊMEAS PRIMÍPARAS	36
	EXPERIMENTO 1 – PERFIL FOLICULAR, CONCENTRAÇÃO DE LH E LEPTINA NO PLASMA DE NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES (<i>Bos taurus indicus</i>) SUPLEMENTADAS COM GORDURA PROTEGIDA OU ENERGIA DE CARBOIDRATO	41
5	INTRODUÇÃO	44
6	HIPÓTESE	45
7	OBJETIVO GERAL	46
7.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
8	MATERIAL E MÉTODOS	47
8.1	LOCAL E ANIMAIS DO EXPERIMENTO	47
8.2	TRATAMENTO NUTRICIONAL	48
8.3	AValiação OVARIANA E UTERINA	51
8.4	COLETA DE SANGUE E QUANTIFICAÇÕES HORMONAIS	52
9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
10	RESULTADOS	57
11	DISCUSSÃO	74
12	CONCLUSÃO	82
13	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

EXPERIMENTO 2 - INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE GORDURA PROTEGIDA NA DIETA DE NOVILHAS NELORE (<i>Bos taurus indicus</i>) NA CICLICIDADE PÓS- PARTO.....	84
14 INTRODUÇÃO.....	87
15 HIPÓTESE	90
16 OBJETIVO GERAL	91
17 MATERIAL E MÉTODOS	92
17.1 LOCAL E ANIMAIS DO EXPERIMENTO.....	92
17.2 PESAGENS E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL	92
17.3 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)	93
17.4 TRATAMENTO NUTRICIONAL	93
17.5 AVALIAÇÃO OVARIANA PÓS-PARTO	95
17.6 COLHEITA DE SANGUE E QUANTIFICAÇÃO HORMONAL.....	96
17.7 ANÁLISE BROMATOLÓGICA DAS DIETAS DO EXPERIMENTO.....	96
17.8 PESAGEM DAS BEZERRAS E MAMADA CONTROLADA.....	97
17.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	98
18 RESULTADOS	99
19 DISCUSSÃO	109
20 CONCLUSÃO	117
21 CONSIDERAÇÕES FINAIS	118
REFERÊNCIAS	120

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui 212,8 milhões de bovinos (IBGE, 2012), e a Nelore é a principal raça de corte criada no país, correspondendo a 70% do rebanho brasileiro (PESSUTI; MEZZADRI, 2004).

A falha na reprodução é um dos mais importantes fatores que limitam um melhor desempenho da pecuária de corte brasileira (PESSUTI; MEZZADRI, 2004). Segundo Nogueira (2004), as fêmeas de corte do Brasil apresentam o primeiro parto aos 40 meses e entre os fatores que podem causar a parição tardia está a genética e a nutrição inadequada.

Manejos para produzir novilhas de reposição precisam dos conhecimentos dos processos fisiológicos que determinam a idade à primeira ovulação. A eficiência reprodutiva pode ser conseguida com melhorias genéticas, nutricionais e sanitárias visando a redução da idade à puberdade que 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 (OLIVEIRA et al., 2006; CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

2 HIPÓTESES

O fornecimento de gordura protegida na dieta durante o período de maturação sexual de novilhas Nelore pré-púberes eleva a concentração plasmática de leptina e de LH, interferindo no desenvolvimento folicular e diminuindo a idade à primeira ovulação. à desmama à primeira ovulação

O fornecimento de gordura protegida na dieta altera a ciclicidade e diminui o tempo para a ovulação pós-parto em novilhas Nelore primíparas, com escore corporal 2,5, alimentadas no terço final da gestação.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se a administração de gordura protegida após à desmama interfere na idade à primeira ovulação e desenvolvimento folicular em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*). Em outro experimento, verificar se há aumento no diâmetro do folículo pré-ovulatório e no número de folículos, alterando a ciclicidade no período pós-parto de novilhas Nelore primíparas alimentadas com gordura protegida no terço final da gestação apresentando um escore corporal de 2,5.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da alimentação com gordura protegida em novilhas pré-púberes Nelore (*Bos taurus indicus*) sobre:

1) A maturação sexual refletida pela:

- frequência de pulsos de LH;
- valor máximo de pulsos de LH;
- concentração de leptina;
- dinâmica folicular;
- peso corporal e ganho médio diário (GMD).
- primeira ovulação;

2) A ciclicidade pós-parto em animais alimentados com gordura no pré-parto refletida por:

- Alterações de peso, ganho médio diário e escore de condição corporal;
- diâmetro do maior folículo e número de folículos;
- concentração de LH no plasma e suas correlações;
- primeira ovulação pós-parto

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 PUBERDADE EM FÊMEAS BOVINAS

A puberdade é definida como a idade na qual as novilhas tem sua primeira ovulação e fase luteal (SANTOS; AMSTALDEN, 1998).

Apesar do crescimento folicular ovariano começar logo após a formação da gônada e ser acompanhado da produção de esteróides, até a puberdade, a ovulação não acontece (PATTERSON et al., 1992).

Em poucas palavras, puberdade em bovinos é um processo gradual e está associado com elevada frequência de pulsos de LH, os quais estimulam o desenvolvimento de folículos ovarianos à estágios pré-ovulatórios. Durante o período pré-púbere, esses folículos secretam quantidades basais de estrógenos, os quais inibem secreção de LH. Esse feedback negativo ao estradiol diminui a medida que a puberdade se aproxima, levando conseqüentemente ao primeiro pico de LH e ovulação (DAY et al., 1984).

A idade em que as novilhas de raças européias (Angus) atingem a puberdade (entre 10 e 24 meses de idade, segundo PATTERSON et al., 1992; SCHILLO et al., 1992; PEREIRA, 2000; BALL; PETERS 2006; MORAES et al., 2007), está diretamente associada com o peso corporal, composição corporal e raça. Novilhas leiteiras geralmente atingem puberdade quando alcançam cerca de 60% do peso adulto (OWENS et al., 1993). A idade à primeira ovulação nas novilhas zebuínas acontece ao redor de 22 a 36 meses, e a idade ao primeiro parto ao redor de 44 a 48 meses de idade (ROMANO et al., 2007). Novilhas que consomem maior quantidade de energia e apresentam maior taxa de ganho de peso diário atingem a puberdade com menor idade (FERREL et al., 1991).

Novilhas com maior ingestão de energia e maior ganho de peso entram em puberdade mais cedo, uma vez que os pulsos de LH associados com a puberdade podem ser influenciados pelo status nutricional do animal (SCHILLO et al., 1992).

Os hormônios e metabólitos associados com ingestão de energia, como glicose, insulina e IGF-I, parecem estimular a secreção de gonadotrofinas (LH e FSH) ao influenciar a atividade secretora do eixo hipotalâmico-hipofisário (BUTLER; SMITH, 1989; SCHILLO et al., 1992), e também podem aumentar os efeitos dessas gonadotrofinas nas células ovarianas (SPICER; ECHTERNKAMP, 1995) e diminuir a sensibilidade do hipotálamo ao feedback negativo do estradiol (FOSTER, 1988).

O fator de crescimento semelhante a insulina-I (IGF-I) é um hormônio protéico que se assemelha à insulina na sua estrutura, e tem funções anabólicas ao promover crescimento e multiplicação celular (QUIN, 1992).

O IGF-I é primariamente sintetizado pelo fígado em resposta ao hormônio do crescimento (GLUCKMAN et al., 1987), contudo, diversos estudos em bovinos demonstraram que concentrações sanguíneas de IGF-I foram positivamente correlacionadas com ingestão de alimento (BOSSIS et al., 1999; ARMSTRONG et al., 2001; RAUSCH, 2002) e concentrações sanguíneas de insulina (KEISLER; LUCY., 1996; WEBB et al., 2004).

Conseqüentemente, uma vez que glicose, insulina e IGF-I sanguíneos parecem estar associados, concentrações dessas substâncias no sangue de bovinos podem ser mediadas pelo perfil de Ácidos Graxos Voláteis (AGVs) sintetizados no rúmen (COOKE et al., 2007). Esses hormônios e metabólitos são associados positivamente com ganho de peso em gado de corte (ELLENBERGER et al., 1989; VIZCARRA et al., 1998; HERSOM et al., 2004).

4.2 IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO NA REPRODUÇÃO E SUPLEMENTAÇÃO DE GORDURA PARA NOVILHAS NO PERÍODO PERI-PÚBERE

Dentre os fatores que influenciam a reprodução, a nutrição tem papel importante, pois a reserva de energia é um importante aspecto relacionado ao desempenho reprodutivo na fêmea bovina (HAWKINS et al., 1995; MAGGIONI et al., 2008).

Segundo Nogueira (2004), para que a novilha zebuína possa expressar o potencial genético para precocidade sexual é necessário que disponha de

alimentação e manejo sanitário adequados. O aumento no fornecimento de energia ou proteína podem aumentar o peso e diminuir a idade à puberdade (PATTERSON et al., 1992; ROMANO et al., 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). A densidade de energia da dieta interfere no crescimento folicular, ovulação e no desenvolvimento embrionário (RIGOLON et al., 2009). A mudança na formulação das dietas pode nos levar a interferir no início da puberdade.

As respostas à suplementação com óleo de soja foram avaliadas em novilhas peri-púberes por Whitney et al. (2000) e Brokaw et al. (2001).

Whitney et al. (2000) atribuíram o maior ganho médio diário (GMD) e maior relação de consumo nas novilhas alimentadas com óleo de soja a 3% da MS ao aumento na glicemia resultante de maior produção ruminal de propionato. Novilhas alimentadas em currais, que receberam dieta com 3% de óleo de soja não tiveram um GMD maior, mas conceberam cerca de 11 dias mais cedo do que as novilhas que receberam dietas com 0% ou 6% de óleo de soja. Hess et al. (2002) observaram que a suplementação de gordura aumentou as taxas globais de prenhez de 63,8% em novilhas não suplementadas com gordura para 73,6% em novilhas com gordura.

A viabilidade do uso de gordura na alimentação de novilhas de reposição foi recentemente questionada por Funston (2004). A gordura protegida aumenta a quantidade de energia na dieta, por outro lado provoca diminuição na ingestão de matéria seca (COOK et al., 2011), comprometendo o balanço energético a longo prazo.

Rhodes et al. (1978) e Lammoglia et al. (2000) relataram que as medidas da espessura de gordura subcutânea obtida com ultrassom eram maiores com a gordura suplementar nos dias 92 e 112 após o começo do arraçamento com a gordura. O número de novilhas que alcançou a puberdade foi menor no estudo de Rhodes et al. (1978). Ainda que uma maior porcentagem de novilhas alimentadas com gordura alcançou a puberdade antes da estação de monta (LAMMOGLIA et al., 2000), a puberdade tendeu a ser alcançada com menor idade se as novilhas eram pesadas e alimentadas

com gordura suplementar (GARCIA et al., 2003). É preciso ter cuidado para não promover um condicionamento excessivo das novilhas pela administração de gordura ainda mais que esta suplementação leva a uma resposta reprodutiva dependendo da duração desta (HESS, 2002).

Lammoglia et al. (2000) levantaram a hipótese de que um período de arraçoamento de 60 dias antes do início da estação de monta pode ter sido mais adequado do que o período prolongado, usado em seu experimento (162 dias) esta hipótese foi parcialmente baseada na observação de que a espessura de gordura subcutânea foi similar entre os tratamentos depois de 56 dias de administração e as novilhas mais magras (raça Piemontesa) responderam mais favoravelmente à gordura suplementar. Segundo Lammoglia et al. (2000); Whitney et al. (2000) e Lloyd et al. (2002), os aumentos nas concentrações séricas de colesterol induzidos pela gordura da dieta em novilhas de corte pareceram alcançar um platô entre os dias 55 e 88 após a administração.

Hess et al. (2002) recomendaram o uso de gordura suplementar para novilhas de corte durante 60 a 90 dias antes do início da estação de monta.

Animais que tem maior ganho de peso no pós-desmame antecipam a puberdade (HALL et al., 1995; QUINTANS et al., 2004). Porém a suplementação com energia antecipa a idade à puberdade, sem aumentar o peso de novilhas Nelore (ROMANO et al. 2007). No gado europeu a desmama precoce associada ao fornecimento de energia em Energia antecipou a idade a puberdade e aumentou o peso dos animais (MAQUIVAR, 2011).

O diâmetro do maior folículo tem sido utilizado como importante indicador de fertilidade em novilhas (PERRY et al. 2007). A suplementação da dieta com ácido linoléico ou linolênico, não alterou o diâmetro do folículo dominante (AMBROSE et al., 2006), o diâmetro e a taxa de crescimento do folículo pré-ovulatório (CHILDS et al., 2008; CERRI et al., 2009).

Diferente das novilhas pré púberes, em novilhas Nelore ciclando, o aumento da ingestão de energia afetou o recrutamento dos folículos pequenos, aumentando o número de folículos pequenos, com incremento de folículos menores que 4 mm mas não alterou a dominância, independente da fonte de gordura adicionada (GUTIERREZ et al., 1997; ARMSTRONG et al., 2002 ; NOGUEIRA et al., 2012). Nogueira et al. (2009) encontraram uma maior

quantidade de folículos pequenos nos animais tratados com fontes de gordura, e esse aumento pareceu ser independente das concentrações de FSH.

Por outro lado novilhas em anestro induzido por um longo período de restrição na ingestão de matéria seca não apresentaram alterações na concentração de FSH (RHODES et al., 1996), ou novilhas suplementadas com 200% das exigências de manutenção por 3 semanas, também não apresentaram alterações na concentração deste hormônio (GUTIERREZ et al., 1997).

A nutrição é um importante fator que regula a secreção de LH nas fêmeas. O status energético do animal está ligado à maturação folicular e ovulação (SANTOS et al., 2008b), já que a energia fornecida pela suplementação com gordura aumenta a produção de propionato no rúmen, gliconeogênese hepática e, dessa forma, a produção de insulina e IGF-1 (NOGUEIRA, 2008). A glicose tem um efeito positivo sobre a secreção do hormônio luteinizante (FUNSTON, 2004), aumentando a frequência de pulsos de LH e dessa forma o crescimento e maturação folicular (MATTOS et al., 2000). Mudanças severas e prolongadas na nutrição podem alterar a secreção de LH em bovinos por outro lado alterações por curtos períodos parecem não afetar a secreção pulsátil de LH e FSH (BOLAND et al., 2001). A gordura influencia a pulsatilidade de LH induzida pela maior concentração de glicose que esta proporciona ao interferir na gliconeogênese hepática, resultado não encontrado por Boland et al. (2001).

O peso é fator determinante para a maioria das modificações ligadas a primeira ovulação (FOSTER; NAGATANE, 1999; GARCIA et al., 2002), já que são necessários peso e condição corporal compatíveis com a maturidade sexual para que o hipotálamo das novilhas aumente a frequência de pulsos de GnRH e determine a primeira ovulação (FERREL, 1991). Para que o hipotálamo reassuma a pulsatilidade e determine a secreção de LH levando à ovulação, há a necessidade da disponibilidade de energia metabólica, adquirida com o aumento das reservas de gordura, em consequência do crescimento das novilhas. O aumento no peso pode ser identificado pelo hipotálamo através da elevação na concentração da leptina (FOSTER; NAGATANI, 1999) e do IGF-I (JONES et al., 1991; ROBERTS et al., 1990).

Garcia et al. (2002) observaram aumento da concentração de leptina conforme a idade aumentava em novilhas cruzadas, aumento também observado por Beltran (2008) associado ao aumento no peso e na concentração de leptina a partir dos 12 meses de idade em novilhas Nelore precoces e não precoces. A leptina, sintetizada nos adipócitos (FRIEDMAN; HALAAS, 1998; ZHANG, et al., 1994), age como um sinal metabólico informando ao sistema nervoso central que existe reserva energética suficiente para suprir as demandas da atividade reprodutiva (BARASH et al., 1996).

A diminuição 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 (DIAZ-TORGA et al., 2001; GARCIA et al., 2002), 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). 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). Assim, a concentração de leptina seria uma boa referencia da gordura corporal em ruminantes (CHILLIARD et al., 1998; DELAVALAUD et al., 2000).

Acredita-se que os efeitos da leptina sobre a secreção de gonadotrofinas sejam mediados, em parte, pelo neuropeptídeo Y (NPY; KALRA; CROWLEY, 1992). Esse neuropeptídeo, localizado no hipotálamo, tem a capacidade de estimular ou inibir a liberação de GnRH (KALRA; KALRA, 1996) em resposta às condições metabólicas do animal.

Terasawa e Fernandez, (2001) sugeriram ser o NPY um importante inibidor durante a pausa juvenil que antecede a entrada na puberdade, estando associado à ligação entre o controle da alimentação e a secreção de GnRH.

Em novilhas pré-púberes sob boas condições nutricionais, o tratamento com leptina não aumentou a secreção de LH (MACIEL et al., 2004a; ZIEBA et al., 2004), se mostrando incapaz de acelerar o início da puberdade (MACIEL et al., 2004b) somente apresentando efeito sobre a secreção de LH em animais sob restrição alimentar (MACIEL et al., 2004a).

A idade à puberdade para novilhas zebuínas no Brasil fica ao redor de 22 a 36 meses de idade (SOUZA et al., 1995; ROMANO et al., 2007). Os fatores ambientais, principalmente o nível de alimentação, escore de condição corporal, peso, os ganhos de peso pré e pós-desmama são condições importantes na redução da idade à puberdade (PATTERSON et al., 1992; LOBATO, 1998). A nutrição pós desmame desempenha papel crítico na determinação da idade à puberdade (THALLMAN et al., 1999). A influência de diferentes tipos de dietas no período pós desmame tem sido bastante estudada (GASSER et al., 1996; GOJJAM et al., 2011). É importante salientar que apesar dos bovinos da raça zebuína serem mais tardios que os da raça taurina, é possível reduzir parcialmente a idade à puberdade através de manejo nutricional adequado. De Lucia et al. (2002) observaram 32% de puberdade em novilhas Nelore de 15 meses de idade, confinadas e provindas de um sistema de seleção de animais para precocidade sexual. A suplementação antecipa a redução da retroalimentação negativa de estradiol, que antecede a primeira ovulação (GASSER et al., 2006b). Gasser et al. (2006b) demonstraram em novilhas Angus x Simental que a suplementação dos 126 a 196 dias de idade atingiram a puberdade antes que novilhas suplementadas de 196 a 402 dias. De acordo com Lanna (2004), cerca de 50% das novilhas meio sangue zebuínas estariam aptas para a reprodução aos 15 meses de idade, quando alimentadas para obtenção de alto ganho de peso diário. Entretanto, quando se fala de animais Nelore, aos 2 anos de idade os rebanhos ainda apresentam grande proporção de animais pré-púberes que provavelmente tem como causa o baixo peso corporal, baixo ganho de peso e a falta de reservas de gordura ligadas ao baixo escore de condição corporal (LANNA, 2004).

4.3 MANEJO NUTRICIONAL E REPRODUTIVO DE FÊMEAS PRIMÍPARAS

Um fato bem estabelecido é que o desempenho reprodutivo de fêmeas de corte pode ser melhorado com manejo nutricional durante o terço final de

gestação, de forma que garanta um aceitável ECC ao parto e/ou início da estação de monta (SHORT et al., 1990). Os 90 dias que antecedem o parto é um período crítico no ciclo de produção da vaca. O feto cresce rapidamente durante o terço final da gestação, com aproximadamente 80% do crescimento ocorrendo durante este período (NRC, 2006). Neste período da gestação, a vaca deve ganhar cerca de 0,5 kg/dia na forma de crescimento do bezerro, fluídos uterinos associados e membranas. É extremamente importante ter vacas em condições corporais adequadas ao parto para obter menor tempo para o primeiro estro e maior taxa de concepção no primeiro serviço (COOKE et al., 2009), produção suficiente de colostro e garantir que o bezerro nasça saudável. Alguns estudos indicaram que vacas *Bos taurus* com ECC 2 (escala de 0 a 5) ao parto e durante a estação de monta, tiveram reduzidas as taxas de prenhez em comparação com vacas com ECC 2,5 ou superior (KUNKLE; SAND, 2003). Por isso recomenda-se aos produtores manter vacas de corte em ECC de 3-3,5 ao parto. Isso fornece à vaca ou novilha reservas adequadas de energia durante a fase inicial da lactação, de modo que esta entre na estação de monta com pelo menos ECC 2,5, que normalmente é considerado o valor "crítico" para o desempenho reprodutivo adequado de fêmeas de corte, considerando uma escala de avaliação de 0 a 5.

Quando a escassez de alimentos coincide com o pré e o pós-parto, as vacas podem entrar em balanço energético negativo, com diminuição das reservas energéticas e um impacto importante na atividade reprodutiva pós-parto. A troca de uma unidade de ECC, em uma escala de 1 a 9, correspondeu a 33 kg de peso corporal (LALMAN et al., 1997). O retorno a ciclicidade pós-parto, caracterizada pela atividade luteal normal, tem sido estudada por diversos autores. Esse retorno tem grande variação depende da nutrição pré e pós-parto, raça das fêmeas, ECC pré e pós-parto, genética, produção leiteira (habilidade materna) e quantidade de partos (primíparas “vesus” multíparas), merecendo maior destaque o ECC e a quantidade de partos. Normalmente, as vacas primíparas leiteiras mantidas em sistema de pastejo apresentam longos períodos de anestro pós-parto (WILTBANK, 1970) e menor taxa de prenhez ao término da estação reprodutiva em comparação com vacas pluríparas (SÁ FILHO et al., 2012). Em vacas *Bos taurus*, a ação da reserva de energia sobre a atividade luteal difere de acordo com o local do experimento (VIZCARRA et

al., 1998). Estes pesquisadores relataram que, em Louisiana (EUA), no final da estação de reprodução, a porcentagem de vacas com ECC ao parto de 4 (escala 1-9), que tinha atividade luteal foi de 58% em comparação com 89% das vacas com ECC 5 ou 6. Em contraste este efeito não foi observado em vacas na Carolina do Sul (EUA). Dentro do mesmo modelo, Selk et al. (1988) encontraram correlação entre ECC pré-parto e os dias no início da atividade luteal em vacas Hereford (EUA), mas, igualmente, não encontraram nenhuma ligação entre o pré-parto e ECC no início da estação de monta com a atividade luteal 85 dias após o parto. Além disso, o ECC ao parto não influenciou a porcentagem de vacas (Angus, Hereford e seus cruzamentos) com atividade luteal no início da estação de monta em os EUA (SPITZER et al., 1995). Este intervalo do parto ao início da atividade luteal, caiu mais em novilhas Angus e suas cruzas (EUA), que ganhou 1,8 unidades de ECC (escala 1-9) nos primeiros 90 dias pós-parto (LALMAN et al ., 1997).

De acordo com a Richards et al. (1989) nos EUA, vacas multíparas Hereford não prenhes, sem restrição alimentar, a atividade lútea começou a ter prejuízos quando perderam peso cerca de $24,0 \pm 9,0\%$ e com $3,5 \pm 0,1$ de ECC (escala de 1 - 9). Alguns autores encontraram forte relação entre o ECC e o retorno à atividade cíclica. Lalman et al. (1997) obtiveram um intervalo do parto até a atividade cíclica de $121 \pm 6,0$ dias em primíparas com ECC 4 (escala de 1 a 9) o que foi relatado por Lents et al. (2008) em vacas multíparas um intervalo de retorno à ciclicidade de $93,1 \pm 6,5$ dias com ECC menor que 2,5.

Sinclair et al. (2002) em vacas multíparas mostraram que quando o ECC eleva 1 ponto na escala (de 0 a 5), o intervalo entre o parto e a primeira ovulação diminui de $57,1 \pm 4,5$ com ECC 2 para $47,8 \pm 4,5$ dias com ECC 3.

O tamanho do maior folículo é importante no desempenho reprodutivo pós-parto. Com o crescimento deste folículo, sua capacidade ovulatória vai sendo adquirida e melhora a sua resposta ao LH. Alguns trabalhos sugerem que a capacidade ovulatória dos folículos é adquirida com diâmetros inferiores (11,6 a 12,1 mm) em *Bos indicus* comparado aos *Bos taurus* (13,9 a 16,5 mm; BARUSELLI et al., 2007). Gimenes et al. (2008) aplicando 25 mg de LH em novilhas Nelore observaram mais de 80% de ovulação em animais que tinham folículos com diâmetro acima de 8,5mm .

Estudos reportam que vacas zebuínas primíparas com crias apresentavam diâmetro do folículo dominante de $10,7 \pm 1,7$ mm, durante os primeiros 60 dias do período pós-parto (HENAO; GONZÁLEZ, 2008). Lents et al. (2008) observaram que vacas de ECC < 5 (escala de 1 a 9) apresentaram menor folículo ($13,4 \pm 0,4$ mm) que vacas de ECC > 5 ($15,4 \pm 0,4$ mm), diferença também encontrada por Vasconcelos et al. (2009) em vacas múltiparas e primíparas sincronizadas com CIDR e com ECC < 2,75 obtiveram menor diâmetro do folículo dominante ($9,39 \pm 0,19$ mm) comparadas as que apresentaram ECC=3 ($9,88 \pm 0,14$ mm) e > 3,25 ($10,27 \pm 0,26$ mm).

Os sais de Ca^{++} de fonte de gordura contém maiores quantidades de ácido linoleico, e resultam numa absorção aumentada deste em comparação com o ácido linolênico (LOPES et al., 2009). O ácido linoleico pode ser dessaturado e alongado para ácido aracdônico, e servir como um precursor para a síntese de $\text{PGF}_2\alpha$ (YAQOOB; CALDER, 2007). Contudo, há indícios que o ácido linoleico reduz a produção de $\text{PGF}_2\alpha$ inibindo a síntese das enzimas $\Delta 6$ -desaturase e ciclooxigenase (STAPLES et al., 1998, CHENG et al., 2001). No entanto, outros estudos demonstraram que a suplementação de vacas após o parto com ácido linoleico aumentou as concentrações circulantes de metabólitos da $\text{PGF}_2\alpha$ e reduziu a taxa de prenhez (FILLEEY et al., 2000; GRANT et al., 2005). Ao contrário deste ácido, o linolênico é um precursor dos ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico, que inibem a atividade da ciclo-oxigenase e, consequentemente a síntese de $\text{PGF}_2\alpha$ (YAQOOB; CALDER, 2007). A suplementação com ácido linolênico inibe a síntese de $\text{PGF}_2\alpha$ e reduz as perdas de prenhez em bovinos (BURKE et al., 1997; THATCHER et al., 1997; MATTOS et al., 2000). Dependendo das quantidades e do tipo de ácido que atinge os tecidos-alvo a luteólise pode ser estimulada ou inibida (THATCHER; STAPLES, 2000).

Omega-3 (Linolênico) e omega-6 (Linoleico, PUFAs) podem afetar uma série de fatores associados com a síntese e metabolismo de importantes hormônios reprodutivos, como os hormônios esteróides, progesterona (P4) e estradiol (E2) (GULLIVER et al., 2012). As dietas com n-3 estão associadas com menores concentrações de colesterol no plasma (ROBINSON et al., 2002), o que pode reduzir a síntese de esteróide, como o colesterol que é precursor da produção de P4 e E2 (STAPLES et al., 1998). No entanto, a

inibição de PGF2 α pelo aumento de n-3 pode impedir a regressão do corpo lúteo (CL), resultando em liberação contínua de P4 (MCCRACKEN et al., 1972). Já as dietas ricas em n-6 estão associadas a maior produção de colesterol (ROBINSON et al., 2002), proteína esteroidogênica reguladora aguda (StAR) (WANG et al., 1999) e de PGE2 (MARSH, 1970), que estimulam a produção de P4 (WATHES et al., 2007; LOPES et al., 2011).

Dietas contendo grandes quantidades de AGCL (ácidos graxos de cadeia longa) aumentam a gliconeogênese hepática, devido ao aumento na liberação de propionato no rúmen (SELNER; SCHULTZ, 1980; CHALUPA et al., 1986; KEELE et al., 1989). O aumento na gliconeogênese está associado com aumentos nas concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1, que influenciam a população de folículos médios (THOMAS; WILLIAMS, 1996).

A suplementação de ácidos graxos em dietas isoenergéticas, antes da estação de monta resultou no aumento do número de vacas ciclando no começo deste período (RAES et al., 2004), sem efeito reprodutivo em novilhas Nelore suplementadas com gordura (GUARDIEIRO et al., 2010).

Durante o início da lactação, as vacas leiteiras experimentam um período de balanço energético negativo acentuado, devido à elevada demanda de nutrientes e energia para a produção de leite e redução do consumo de matéria seca (HUTCHINSON et al., 2012). Por outro lado as fêmeas de corte sofrem um balanço energético negativo menos acentuado, já que tem menor aptidão leiteira e redução menos acentuada no consumo alimentar pós-parto. Nas condições de produção do Brasil, as fêmeas Nelore primíparas mantidas a pasto, em grande parte, apresentam uma forte queda no escore de condição corporal em função do balanço energético negativo associado a falta da qualidade e quantidade de forragem no período pós-parto que corresponde ao período de seca.

Normalmente, o pico da produção de leite para vacas de corte *Bos taurus* ou *Bos indicus* é alcançado entre 8,8 a 11,1 semanas de lactação (JENKINS; FERRELL, 1992; OLIVEIRA et al., 2007), e vacas primíparas tendem a atingir o pico mais tarde do que vacas multíparas. No entanto, essa resposta não tem sido consistente em vacas Nelore (MENEGETTI et al., 2009). Meneghetti et al. (2009) não relataram diferenças na fertilidade de vacas primíparas e pluríparas da raça Nelore, quando realizada a IATF, com escore

de condição corporal acima de 3. Isso pode ser particularmente importante em vacas primíparas em condições de pastejo, não só porque elas têm que manter a produção de leite para o aleitamento, mas também por apresentarem maiores necessidades nutricionais para suporte de seu crescimento (SÁ FILHO et al., 2012). A suplementação de vacas adultas durante os últimos 90 dias de gestação, melhora a capacidade de sobrevivência do bezerro e peso na desmama, maior rendimento e retorno econômico no desmame (BOHNERT et al, 2010; STALKER et al, 2006).

EXPERIMENTO 1

PERFIL FOLICULAR, CONCENTRAÇÃO DE LH E LEPTINA NO PLASMA DE NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES (*Bos taurus indicus*) SUPLEMENTADAS COM GORDURA PROTEGIDA OU ALTA ENERGIA.

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar se a administração de gordura protegida por 92 dias após à desmama interfere no desenvolvimento folicular e na idade à primeira ovulação em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*). Foram utilizadas 30 novilhas Nelore contemporâneas com peso vivo médio de 167kg. Os animais foram divididos em 3 grupos e submetidos a tratamentos com ou sem adição de gordura protegida (Megalac-E[®]): Grupo Controle (GC, n=10), 2,2kg de ração para crescimento com bagaço de cana, 500g de milho moído. Grupo Gordura (GG, n=10), 2,2kg de ração crescimento com bagaço de cana, 200g de gordura protegida. Grupo Energia (GE, n=10), 2,2kg de ração de crescimento misturados com bagaço de cana, 500g de milho moído mais 200g de Megalac-E[®]/animal. Foi realizado exame ultrassonográfico dos ovários e coletas de sangue a cada 4 dias dos 9° ao 18° mês de idade, a cada 7 dias do 18° ao 20° mês de idade e diariamente por 17 dias durante o 10°, 12°, 14° e 16° mês de idade. Foram coletadas amostras a cada 20min por 12h no 11°, 13°, 14° e 16° mês de idade (antes e durante as dietas para). Realizou-se radioimunoensaio para LH, leptina e progesterona. Durante e após o tratamento nutricional, o peso médio não variou entre os grupos ($p=0,32$ e $p=0,34$). O peso dos animais aumentou ao longo do tempo ($p=0,0001$). Não houve diferença no ganho médio diário entre os grupos antes ($p=0,58$), durante ($p=0,16$) e após os tratamentos ($p=0,83$). Após o início dos tratamentos, os animais dos grupos GG e GE apresentaram menor número de folículos ($p=0,019$; $6,94 \pm 1,56$ e $6,55 \pm 1,66$) que os animais do grupo Controle ($8,12 \pm 1,68$). Durante o período dos tratamentos nutricionais o grupo Gordura apresentou maior ($p=0,05$) número de picos de LH ($3,12 \pm 1,64$) que o grupo Energia ($1,86 \pm 0,90$) e o grupo Controle ($2,63 \pm 0,74$) que apresentou número intermediário. O GC apresentou maior área de secreção de FSH ($p=0,03$) quando comparado ao GG (e o GE intermediária. O GC apresentou maior área de concentração e valor máximo de FSH ($p=0,06$; $p=0,08$) que o GG e o GE valores intermediários aos 14 meses. Não houve diferença ($p>0,05$) na concentração média de leptina entre os grupos Controle, Gordura e Energia antes, durante e após os tratamentos. Todos os grupos apresentaram menor área total de secreção de leptina o antes e durante os

tratamentos, comparado ao período após os tratamentos (GC: $p=0,003$; GG: $p=0,008$; GE: $p=0,01$). Após o período de tratamento, o GE apresentou maior valor máximo de leptina ($p=0,08$) que o GC ($1,71\pm0,77$ ng/ml) e o GG valor intermediário ($2,87\pm1,57$ ng/ml). A gordura diminuiu o número de folículos, aumentou da frequência de pulsos de LH, diminuiu a secreção de FSH durante o começo da suplementação. A dieta com alta energia diminuiu a área de secreção de LH e aumentou a valor máximo de concentração de leptina.

5 INTRODUÇÃO

Em novilhas, a puberdade pode ser definida como momento em que ocorre a primeira ovulação. A partir desse momento, a fêmea adquire capacidade de reproduzir. Entretanto, a puberdade não deve ser interpretada como um evento isolado, sendo caracterizada como a etapa final de inúmeras alterações fisiológicas e morfológicas que culminam com a capacidade de conceber e manter uma gestação. Sendo assim, a maturidade sexual da novilha é adquirida após a ovulação acompanhada de um ciclo estral de duração normal e do desenvolvimento adequado do sistema genital.

Após o nascimento, mecanismos neuro-endócrinos bloqueiam o funcionamento do sistema reprodutivo até que a fêmea atinja o desenvolvimento corporal compatível com a reprodução. Quando a novilha inicia a atividade reprodutiva, os gastos energéticos utilizados para o crescimento e desenvolvimento diminuem, permitindo as ocorrências normais da ovulação, cópula, gestação, parto e lactação (NOGUEIRA, 2004).

A idade à puberdade é uma característica de produção fundamental em bovinos. Em raças zebuínas de corte selecionadas para precocidade sexual, as novilhas podem atingir a puberdade com idade entre 13 e 15 meses. Em sistemas intensivos de produção de leite e de carne, as novilhas devem apresentar o primeiro parto até 25 meses de idade. O atraso na ocorrência do primeiro parto irá acarretar importantes perdas econômicas. No entanto, a idade à puberdade para novilhas zebuínas criadas a pasto varia entre 22 e 36 meses, projetando a idade ao primeiro parto para 44 a 48 meses (SOUZA et al., 1995). A idade ao primeiro parto do rebanho de corte nacional está em torno de quatro anos e o intervalo entre partos de 20 a 21 meses (TORRES, 1996). Essa baixa eficiência reprodutiva demonstrada, ocasiona perdas econômicas para o produtor e para a indústria pecuária. No entanto, existem trabalhos que são indicativos de que um manejo nutricional adequado, associado ou não à terapia hormonal, pode reduzir a idade à puberdade de fêmeas zebuínas criadas a pasto para 18 a 20 meses (SANTOS e SÁ FILHO, 2006).

6 HIPÓTESE

O fornecimento de gordura protegida na dieta durante o período de maturação sexual de novilhas Nelore pré-púberes eleva a concentração plasmática de leptina e de LH, interferindo no desenvolvimento folicular e na idade à primeira ovulação.

7 OBJETIVO GERAL

Verificar se a administração de gordura protegida por 92 dias após à desmama interfere no perfil hormonal, no desenvolvimento folicular e na idade à primeira ovulação em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*).

7.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da alimentação com gordura protegida em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) pré-púberes sobre a maturação sexual refletida pela:

- frequência de pulsos de LH;
- valor máximo dos pulsos de concentração de LH;
- concentração de leptina;
- dinâmica folicular;
- peso corporal;
- idade à primeira ovulação.

8 MATERIAL E MÉTODOS

8.1 LOCAL E ANIMAIS DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado de maio de 2009 a abril de 2010 nas dependências do Campus da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba, localizada na região Noroeste do estado de São Paulo a 21°12'32" de latitude sul e 50°25'58" de longitude oeste e, a uma altitude média de 390 metros. Foram utilizadas 30 novilhas Nelore contemporâneas, com aproximadamente 9 meses de idade, nascidas com intervalo máximo de 30 dias de diferença e peso vivo médio de 167 ± 13 kg, provindas de rebanho comercial da região. Os animais foram identificados por brincos, vacinados contra clostridiose, brucelose e aftosa no local de origem. Antes do início do experimento, as novilhas foram manejadas diariamente para que se habituassem à rotina de trabalho no curral, buscando assim evitar o estresse, o que poderia interferir nos resultados do trabalho e passaram por condicionamento ao manejo intensivo, realizada por um profissional especializado, para minimizar o estresse e assim facilitar a posterior avaliação ovariana por ultrassonografia e as coletas de sangue para dosagem de hormônios. Com a utilização da doma, em um mês, já foi possível um contato mais próximo e seguro com os animais. Após a fase de adaptação, durante a qual os animais já passavam (30 dias) por coletas de sangue e acompanhamento da atividade ovariana, estes foram divididos em 3 categorias. Para esta divisão foi considerado o critério de seleção de acordo com o biotipo dos animais (relacionado com precocidade a primeira ovulação): biotipo A contendo 12 animais de conformação baixa e curta (precoces), biotipo B contendo 12 animais de conformação alta e curta e biotipo C contendo 6 animais de conformação alta e longa. Após esta classificação, os animais foram divididos em 3 grupos (Grupo Controle n=10, Grupo Gordura n=10 e Grupo Energia n=10), distribuindo-se os animais de acordo com o peso e o biotipo para melhor homogeneidade dos lotes e posterior confinamento.

Os animais foram pesados durante todo o experimento, para avaliação do peso médio e ganho médio diário dos animais em cada grupo, antes, durante e após o fornecimento da gordura.

8.2 TRATAMENTO NUTRICIONAL

O estudo foi dividido em 4 fases: adaptação, pré-experimental, tratamento e pós-tratamento. Os animais ficaram confinados de acordo com seu grupo experimental, com 80 cm de cocho para cada animal. Na fase de adaptação, os animais foram submetidos a um período de 30 dias de adaptação à dieta a base de bagaço de cana e ração de crescimento, fornecida na proporção de 0,5 kg de ração por animal por dia e 0,5 kg de bagaço de cana, aumentando gradativamente ambos até chegarem à proporção de 4 kg de ração e 6 kg de bagaço por dia no início da fase pré-experimental (94 dias). Cada um dos 3 grupos foi submetido a tratamentos com ou sem adição de gordura protegida (sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa, Megalac-E[®]): Grupo Controle (GC, n=10), 2,2kg de ração comercial para crescimento de ruminantes (Exito Rural[®], níveis de garantia da ração utilizada no experimento são apresentados na Tabela 1) misturados com 6kg de bagaço de cana, 500g de milho moído por animal. Grupo Gordura (GG, n=10), 2,2kg de ração crescimento misturados com 6 kg de bagaço de cana, 200g de gordura protegida (Megalac-E[®]). Grupo Energia (GE, n=10), 2,2kg de ração de crescimento misturados com 6 kg de bagaço de cana, 500g de milho moído mais 200g de gordura protegida por animal. O alimento era pesado e separado em sacos individuais identificados de acordo com o grupo, oferecido por cima da mistura de bagaço e ração e era ministrado no período da manhã aos animais, a fim de termos a certeza da melhor e maior ingestão dos tratamentos, visualmente acompanhada. A dieta básica foi calculada pelo modelo de requerimento de energia metabolizável para manutenção e crescimento de bovinos de corte do NRC (1996), porém em condições que pudessem se assemelhar às pastagens tropicais. No período da tarde era oferecido 2kg de ração a todos os animais misturados com 2 kg de bagaço de cana. Duas vezes por semana adicionava-se um complexo

vitamínico comercial (Vitagold[®], Tortuga) na dose de 5ml/animal, para atender as exigências de consumo de vitaminas, além de sal mineral e água fornecidos *ad libitum* para todos os grupos.

As dietas do Grupo Controle e Grupo Gordura foram isocalóricas (quantidades iguais de EM/kg de MS) e as dietas do Grupo Gordura e Grupo Energia tiveram a mesma quantidade de gordura protegida, porém com diferentes concentrações energéticas. Os animais começaram a receber os tratamentos a partir dos 13 meses de idade.

Os animais já alojados em confinamentos desde o início da fase de adaptação, permanecendo confinados durante todo o período experimental, passaram por exames ultrassonográficos e coletas de sangue consecutivas (com intervalo de 4 dias entre as coletas) para que se habituassem à rotina do experimento. Concomitante a essas coletas, durante o período de 30 dias acima referido, foi realizada a doma das novilhas. Na fase pré-experimental, todos os animais receberam um total de 4,2 kg de ração por animal misturado com bagaço de cana oferecidos em intervalos de 8 h, com o objetivo de adaptar os animais à nova dieta e ao confinamento, e padronizar o ritmo de crescimento. Na fase do tratamento, as novilhas receberam as dietas experimentais durante 92 dias, iniciaram o tratamento com 401 dias e finalizaram com 493 dias de idade em média. Na fase de pós-tratamento foram retirados os tratamentos nutricionais das dietas e os animais foram mantidos em um nível de desenvolvimento e crescimento satisfatório, semelhantes às condições oferecidas em pastagens de clima tropical, nesta fase os animais foram mantidos em um confinamento com 80 cm de cocho por animal e continuamos as coletas de sangue e exames ultrassonográficos com o intuito de verificar se após os tratamentos os animais ovulariam após a influência das dietas.

Não foi realizado o controle da ingestão alimentar diária dos animais durante o experimento pois estes permaneceram em grupos de dez animais cada, tornando-se inviável a avaliação da ingestão, já que esta deve ser realizada individualmente. Foi realizada a pesagem da sobra total de cada grupo no confinamento uma vez por semana para ajustes na quantidade do alimento fornecido aos animais. Por utilizarmos o bagaço-de-cana como volumoso foi estipulada uma sobra de 20% do total oferecido para, com

segurança, obtermos a quantidade suficiente de volumoso misturado com concentrado, e se houvesse necessidade ajustar a quantidade oferecida.

Tabela 1 - Composição das dietas fornecidas durante a fase de tratamento.

Ingrediente (kg)	Dietas		
	Controle	Gordura	Energia
Fosfato 18,5%	0,021	0,021	0,021
Sal branco (NaCl)	0,021	0,021	0,021
Calcário	0,008	0,008	0,008
S. Cobre	0,001	0,001	0,001
S. Zinco	0,001	0,001	0,001
S. Cobalto	0,0001	0,0001	0,0001
Polpa	2,4938	2,4938	2,4938
Milho	0,8675	0,3675	0,8675
F. Algodão	1,05	1,05	1,05
F. Soja	0,1575	0,1575	0,1575
Uréia	0,0788	0,0788	0,0788
Monensina 10%	0,0005	0,0005	0,0005
Bagaço de Cana	7,00	7,00	7,00
Gordura Protegida	0,00	0,20	0,20

Tabela 2 - Composição das dietas fornecidas durante a fase de tratamento (níveis de garantia).

Nutrientes	Dietas		
	Controle	Gordura	Energia
Umidade (Máx)	34,52%	34,99%	33,94%
Proteína Bruta (Min)	8,71%	8,59%	8,56%
Extrato Etéreo (Min)	0,62%	1,48%	1,92%
Matéria Mineral (Min)	10,32%	10,51%	10,49%
Matéria Fibrosa (Max)	55,35%	55,71%	54,42%
Extrato Não Nitrogenado	14,80%	12,34%	14,55%
Cálcio (Max)	0,21%	0,21%	0,21%
Fósforo (Min)	0,08%	0,07%	0,08%
Sódio (Min)	0,07%	0,11%	0,10%
Cobre (mg/kg)	17,23	17,68	16,94
Cobalto (mg/kg)	1,51	1,55	1,48
Zinco (mg/kg)	25,13	25,79	24,71
Manganês (mg/kg)	-	-	-
Iodo (mg/kg)	0,42	0,43	0,42
Selenio (mg/kg)	0,08	0,08	0,08
Monensina (mg/kg)	4,49	4,61	4,41
Energia Met.: (MJ/kg):	7,64	7,78	7,99

Tabela 3 - Porcentagem dos principais ácidos graxos encontrados na gordura protegida (Megalac-E[®]) fornecida na dieta dos grupos Gordura (n=10, 200g/animal/dia) e Energia (n=10, 200g/animal/dia mais 500g de milho) durante o período de tratamento nutricional (401 a 493 dias de idade).

Nome do Ácido Graxo	Símbolo	%
Láurico	C12:0	0,89
Palmítico	C16:0	13,85
Esteárico	C18:0	4,01
Elaidico	C18:1 n9t	3,18
Oléico	C18:1 n9c	17,92
Linoléico	C18:2 n6c	49,09
Arquídico	C20:0	0,84
Cis-11-Eicosenóico	C20:1	0,6
Linolênico	C18:3 n3	4,39
Heneicoisanóico	C21:0	1,8
Behênico	C22:0	0,68

Fonte: Arm & Hummer, 2009.

8.3 AVALIAÇÃO OVARIANA E UTERINA

As novilhas aos 9 meses de idade já apresentavam desenvolvimento corporal suficiente para o exame ultra-sonográfico dos órgãos genitais internos transretal. O exame dos ovários foi conduzido a cada 4 dias dos 9° (270 dias) ao 18° (540 dias) mês de idade, a cada 7 dias do 18° (540 dias) ao 20° (600 dias) mês de idade e diariamente por 17 dias durante o 10° (300 dias), 12° (360 dias), 14° (420 dias) e 16° (480 dias) mês de idade, para a caracterização do diâmetro e número de folículos e o acompanhamento de ondas de crescimento folicular durante a maturação sexual.

Os exames dos ovários e do útero (para diagnóstico de gestação) foram feitos de acordo com Ginther et al. (1996). Após a contenção da novilha no tronco e retirada das fezes do reto, o transdutor recoberto por uma camada fina de gel (carboximetilcelulose - sal sódico USP/F.C.C - 500g Synth[®]) foi introduzido com a face dos cristais voltada ventralmente, orientadas pela superfície dorsal dos órgãos genitais internos. Durante a passagem do transdutor sobre a cérvix e corpo do útero, foram realizados movimentos latero-laterais para avaliação destas estruturas. Em seguida, o transdutor foi direcionado no sentido de cada ovário, buscando posicioná-los sob o transdutor e, com movimentos latero-laterais, os ovários foram avaliados quanto ao número, localização e diâmetro de cada folículo e presença de corpo lúteo.

A cada dia a posição, o diâmetro e o número de folículos $\geq 4\text{mm}$ foram anotados em fichas individuais para posterior tabulação. A imagem foi congelada na área aparente de maior distância entre as bordas do folículo e a mensuração do antro foi feita na altura e largura da imagem, com os marcadores (calipers) do ultra-som. O diâmetro estimado era obtido através da média dos valores obtidos.

Foi utilizado um aparelho de ultra-sonografia GE (General Electric LogicTM-100 CE 0459; GE Medical System, Milwaukee, USA) equipado com um transdutor linear de 5 MHz para uso trans-retal.

8.4 COLETA DE SANGUE E QUANTIFICAÇÕES HORMONAIS

As amostras de sangue foram coletadas a cada 4 dias durante todo o período do experimento, do 9º ao 18º meses de idade, a cada 7 dias do 18º ao 20º mês de idade e diariamente por 17 dias durante o 10º, 12º, 14º e 16º mês de idade das novilhas, sempre acompanhando o exame ultrassonográfico. As amostras foram colhidas da jugular em tubos de 10 ml (sistema Vacutainer[®]) contendo EDTA 10%, refrigerados a 4°C e centrifugados a 1400 g por 15 min para a separação do plasma (centrifuga Fanen Excelsa Baby I modelo 206[®]) e posteriormente aliquotados em duplicata em microtubos de

polipropileno (Axigen Scietific MCT-200B[®] de 2,0ml) e armazenados a – 20°C até a realização dos ensaios. Nos 11^o, 13^o, 14^o e 16^o mês de idade das novilhas (antes, 11^o e 13^o mês, e durante o tratamento nutricional com gordura protegida, 14^o e 16^o) foram realizadas coletas seriadas (a cada 20min por 12h) em três animais por dia (um de cada grupo de tratamento nutricional) e em dias alternados (totalizando 5 animais por grupo por mês de coleta, os 30 animais passaram por coletas seriadas antes e durante os tratamentos nutricionais com Megalac-E[®]). Para as coletas a cada 20 minutos, uma cânula tipo I-Cath[®] (BD, cateter 16 GA com 30,5 cm de comprimento e agulha 14 GA) foi inserida na jugular no dia anterior interferindo o menos possível no bem-estar dos animais durante a coleta seriada. A contenção para canulação foi realizada com xilazina (0,5 mg/kg) por via intramuscular para a tranquilização do animal (Aguiar, 2004), que foi imobilizado, tendo seus membros locomotores contidos com cordas. Foram realizadas tricotomia e anti-sepsia no local da punção. Após este procedimento, o cateter foi introduzido na veia do animal através da agulha de canulação, permanecendo 10 cm do seu comprimento exposto. A seguir a agulha de canulação foi retirada e acoplada a um adaptador que revestia a agulha e parte do cateter, e a cânula foi fechada com um adaptador Luer Lok (BD[®]) com látex auto-vedante. Neste ponto a cânula foi fixada com esparadrapo e suturada com fio de nylon estéril na pele do animal. Um (1) mL de solução estéril de citrato de sódio 3,5% (em solução de NaCl 0,9%) foi injetado para evitar coagulação do sangue no interior da cânula. A parte da cânula que ficou exposta foi colocada dentro de uma bolsa de couro sintético, a qual também foi fixada a pele do animal através de sutura com fio de nylon estéril. A bolsa (dimensões: 10x10 cm) foi fechada por um velcro tendo por objetivo proteger a cânula. No dia da coleta os animais canulados permanecem em baias no curral.

No dia da canulação e no dia da coleta seriada, os animais canulados permaneceram no curral o tempo todo, contidos por cabresto que permitisse, com a menor interferência possível, os mesmos a se alimentar e beber água. Para fim de organização, cada animal foi identificado pelo brinco, bem como seringas utilizadas. Os números das novilhas foram também anotados nos tubos contendo EDTA a 10% (em solução de NaCl 0,9%).

Antes de dar início as coletas seriadas verificou-se o funcionamento das cânulas em todos os animais. Um cronômetro foi programado para soar o alarme no momento de cada coleta, cada qual obedeceu à seguinte rotina: acionou-se o cronômetro, abriu-se a bolsa e a cânula foi exposta; retirou-se a tampa da cânula; com uma seringa retirou-se 2 mL de sangue que foram desprezados por conter a solução de citrato de sódio 3,5% que estava no interior da cânula; com outra seringa, aspirou-se 8 ml de sangue (amostra); com uma seringa de 10 mL (seringa do anticoagulante), injetou-se 1 mL de solução de citrato de sódio 3,5% na cânula, visando impedir a formação de coágulos no seu interior; colocou-se novamente a tampa na cânula; com auxílio de uma seringa de 1 ml e uma agulha 13 mm x 0,3 mm (tipo insulina) completou-se a cânula com 0,3 ml de solução de citrato de sódio 3,5%; fechou-se a cânula dentro da bolsa de curvim; depositou-se a amostra em tubo de vidro contendo 200 µL de EDTA a 10% identificado com o número do animal e o número da amostra; agitou-se e acondicionou em geladeira. Todas as coletas foram realizadas no período diurno.

As amostras foram centrifugadas a 1.400 g por 15 min para retirada do plasma. As amostras foram transferidas, com pipetas automáticas e ponteiros de até 2 ml descartáveis, para os respectivos microtubos graduados (Scientific Specialties Inc[®]) de 2 mL de capacidade, identificados com o número da amostra, número do animal, data e a sigla do experimento. Após serem preenchidos os tubos foram acondicionados a -20 °C em geladeiras e permaneceram armazenadas nestas condições até a realização do radioimunoensaio para quantificação de LH, FSH e leptina.

Os ensaios para quantificação do LH e FSH bovinos foram adaptados dos descritos por Bolt et al. (1990) e Bolt and Rollins, (1983) respectivamente, realizados no Laboratório de Endocrinologia Animal da FMVA/Unesp de Araçatuba.

O coeficiente de variação intra-ensaio do LH foi de 5,88% para o controle alto (3,15 ng/mL) e de 5,0% para o controle baixo (1,07 ng/mL); o CV inter-ensaio foi de 8,86% para o controle alto e 9,08% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios de LH foi de 0,058 ng/mL, com porcentagem de ligação de 25 a 30%.

O coeficiente de variação intra-ensaio do FSH foi de 7,26% para o

controle alto (5,58 ng/mL) e de 8,07% para o controle baixo (1,34 ng/mL); o CV inter-ensaio foi de 8,19% para o controle alto e 8,20% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios de LH foi de 0,0245 ng/mL.

Os ensaios para quantificação de progesterona bovina (P4) foram realizados em todos os animais a cada 7 dias do 17 ao 21 mês de idade ou até a suposta ovulação, verificada por ultrassonografia e pelos sinais característicos de cio identificados por rufião. Utilizou-se kit comercial Coat-a-Count[®] da Siemens, o CV intra-ensaio foi de 2,01% para o controle alto (17,24 ng/mL) e para o controle baixo 1,31% (0,54 ng/mL), e a sensibilidade do ensaio foi de 0,009 ng/mL. Esse ensaio somente foi realizado para confirmação da ovulação e formação do corpo lúteo dos animais.

Para a quantificação da leptina bovina foram utilizados kits de radioimunoensaio Multi-species (Millipore, Cat. # XL-85K). Um ensaio com duplo-anticorpo que possui como primeiro anticorpo um multiespécie para leptina produzido em cobaio, usa a leptina humana ligada ao iodo¹²⁵ como marcador e um segundo anticorpo precipitante contra IgG de cobaio produzido em cabra. A curva padrão original deste kit é com leptina recombinante humana, como utilizamos soro bovino, montamos uma curva com leptina bovina recombinante adquirida do HyLabs em Israel. Foram quantificadas amostras de todos os animais a cada 10 dias do 13° ao 19° mês de idade e o CV intra-ensaio foi de 8,85% para o controle alto (5,87 ng/mL) e para o controle baixo 0,72% (1,1 ng/mL), e a sensibilidade do ensaio foi de 0,095 ng/mL.

9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados da concentração de gonadotrofinas foram transformados em logarítimos ($\text{Log}(x+1)$) quando não passaram nos testes de normalidade e homogeneidade de variância dos resíduos (Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises e Anderson-Darling). Utilizando-se o programa GrafPad® Prism versão 3.00 for Windows foi calculada a concentração basal (média no período) e a partir da concentração basal, área total de concentração de LH e leptina para comparação entre os grupos. Para o cálculo do número de picos de LH das amostras coletadas a cada 20 min durante 12 h, utilizou-se método desenvolvido por Goodman and Karsch (1980). Utilizou-se o teste de análise de variâncias (ANOVA, PROCGLM) para medidas repetidas em bloco inteiramente ao acaso utilizando como pós-teste o teste de Duncan para comparação de médias do programa SAS® (Statistical Analysis System, 1998). Utilizou-se o programa GrafPad® InStat versão para Windows para calcular as correlações entre concentrações de FSH e número e diâmetro do maior folículo. Os resultados dos dados originais das dosagens hormonais e dados foliculares são apresentados como média $\pm$ SD, considerando o nível de significância de até 9% ($p < 0,09$).

10 RESULTADOS

Não houve diferença no peso vivo dos animais (Figura 1) no período de doma e adaptação (dos 8 aos 12 meses) entre os grupos Controle, Gordura e Energia ($p=0,92$, $193\pm22\text{kg}$, $191\pm21\text{kg}$ e $192\pm20\text{kg}$). Durante a fase de tratamento nutricional (dos 12 aos 15,4 meses), o peso médio não variou entre os grupos ($p=0,32$, $258,5\pm27\text{ kg}$, $245,8\pm30\text{ kg}$, $244,9\pm22\text{ kg}$). Após o fornecimento de gordura, dos 15,4 aos 19,6 meses, também não houve diferença no peso médio entre os grupos Controle, Gordura e Energia ($p=0,34$, $310\pm27\text{kg}$, $295\pm35\text{ kg}$, $297\pm23\text{kg}$). Em todas as etapas experimentais o peso dos animais aumentou ao longo do tempo ($p=0,0001$).

Não houve diferença no ganho médio diário dos animais entre os grupos (Figura 2), no período anterior aos tratamentos ($p=0,58$), as bezerras do grupo Controle apresentaram ganho médio diário de $0,35\pm0,17\text{kg/dia}$, as bezerras do grupo Gordura $0,32\pm0,10\text{kg/dia}$ e as bezerras do grupo Energia $0,30\pm0,11\text{kg/dia}$. Durante o fornecimento da gordura o ganho médio diário não variou entre os grupos ($p=0,16$), o grupo Controle com $0,74\pm0,10\text{kg/dia}$, o grupo Gordura com $0,63\pm0,15\text{kg/dia}$ e o grupo Energia com $0,69\pm0,13\text{kg/dia}$. Após o fornecimento de gordura, também não houve diferença ($p=0,83$) no ganho médio diário entre os grupos, Controle ($0,50\pm0,09\text{kg/dia}$), Gordura ($0,53\pm0,16\text{kg/dia}$) e o grupo Energia ($0,51\pm0,11\text{kg/dia}$, Figura 2).

Figura 1 - Variação do peso vivo (média±SD) em função da idade média dos animais em dias, em novilhas Nelore pré-púberes durante adaptação, recebendo três dietas diferentes (entre linhas): Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10). Período (a) se refere à doma (288 a 329 dias de idade); (b) a adaptação da dieta (329 a 401 dias de idade); (c) período de tratamento nutricional (401 a 493 dias de idade) e (d) período pós tratamento (493 a 605 dias de idade).

Figura 2 - Variação do ganho médio diário (média±SD), em novilhas Nelore pré-púberes antes, durante e após o fornecimento das três dietas diferenciadas: Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10).

Com relação ao diâmetro médio do maior folículo não houve efeito de grupo no período anterior ao fornecimento de gordura ($p=0,58$), entre os animais dos grupos Controle ($6,9\pm1,9$ mm), grupo Gordura ($7,2\pm1,6$ mm) e grupo Energia ($6,8\pm1,7$ mm; Figura 3). Nos primeiros 15 dias após o início do fornecimento de suplemento também não houve efeito de grupo ($p=0,39$) no diâmetro do maior folículo entre o grupo controle ($8,78\pm1,05$ mm), o grupo Gordura ($9,20\pm1,2$ mm) e o grupo Energia ($8,88\pm1,2$ mm, Figura 3a). Em avaliações diárias durante 17 dias dos ovários (60 dias após o início do fornecimento da dieta) também não encontramos diferença ($p= 0,63$) no diâmetro do maior folículo entre os grupos Controle ($9,18\pm0.9$ mm) Gordura ($9,4\pm1,1$ mm) e Energia ($8,9\pm1,7$, Figura 3b).

Figura 3 - Variação no diâmetro do maior folículo (média $\pm$ SD) em função da idade média em novilhas Nelore pré-púberes durante 17 dias (a cada 24 horas) e a cada 4 dias antes, durante e após o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (500g milho, $n=10$), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, $n=10$) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, $n=10$). As mensurações começaram 15 (a) e 60 (b) dias após o início da dieta

Antes do fornecimento de gordura, o número total de folículos nos ovários, também não variou ($p=0,46$) entre os grupos Controle ($6,17 \pm 1,42$), Gordura ($5,75 \pm 1,16$) e Energia ($5,72 \pm 1,52$). Por outro lado após a mudança na dieta, os animais dos grupos que receberam gordura apresentaram menor ($p=0,019$) número de folículos ($G=6,94 \pm 1,56$ e $E=6,55 \pm 1,66$) que os animais do grupo Controle ($C=8,12 \pm 1,68$; Figura 4). A correlação entre o número de folículos e a concentração de FSH foi: antes do fornecimento, no grupo Controle ($r=0,24$, $p=0,17$), no grupo Gordura ($r=0,12$, $p=0,50$) e no grupo Energia ($r=0,14$, $p=0,41$) e após o fornecimento das dietas no grupo Controle

($r=0,10$, $p=0,56$), no grupo Gordura ($r=0,29$, $p=0,10$) e no grupo Energia ($r=0,07$, $p=0,71$).

Figura 4 - Variação no número de folículos (média $\pm$ SD) em função da idade média em novilhas Nelore pré-púberes durante 17 dias (a cada 24 horas) e a cada 4 dias antes, durante e após o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (500g milho, $n=10$), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, $n=10$) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, $n=10$). As mensurações começaram 15 (a) e 60 (b) dias após o início da dieta

Não houve diferença na média da concentração de LH ($p>0,05$) entre os grupos Controle, Gordura e Energia antes e durante os tratamentos, tanto nas coletas realizadas a cada 4 dias do 9° ao 18° meses de idade (Figura 5). O grupo Energia apresentou menor área total de secreção de LH ($31,18\pm14,91$ (ng/ml/dia), $p=0,06$) comparado com os grupos Controle ($63,20\pm33,89$ (ng/ml/dia)) e Gordura ($82,90\pm48,56$ (ng/ml/dia)), após o fornecimento das dietas nas coletas a cada 4 dias (Figura 6). Não houve diferença ($p>0,05$) na área total de secreção de LH entre os grupos nos períodos antes, durante e após as

dietas. Não houve diferença na valor máximo de secreção de LH ($p>0,05$) entre os grupos em todo o período experimental, antes, durante e após o tratamento nutricional (Figura 6).

A concentração de LH tanto nas amostras coletadas a cada 24 h durante 17 dias nos 10°, 12°, 14°, 16° mês de idade quanto nas amostras coletadas a cada 20 minutos durante 12 h, não foi diferente entre os grupos antes ($p=0,54$) e durante ($p=0,62$) o fornecimento das dietas (Figura 7). Dentro de cada grupo a concentração média de LH das amostras coletadas a cada 24hs durante 17 dias, não variou entre antes e durante ($p=0,20$) o tratamento tanto no grupo Controle, quanto no grupo Gordura ($p=0,88$) e no grupo Energia ($p=0,45$). O mesmo aconteceu com a área total e a valor máximo de secreção de LH ($p>0,05$) não houve diferença entre os grupos nas coletas realizadas a cada 24 horas durante 17 dias, em todo período e nos 10°, 12°, 14°, 16° mês de idade.

Figura 5 - Variação na concentração de LH plasmático (média $\pm$ SD de amostras colhidas a cada 4 dias) em novilhas Nelore pré-púberes antes (9,6 a 13,6 meses de idade) e durante (13,6 a 16,5 meses de idade) o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (n=9, 500g milho), Gordura (n=8, mais 200g gordura protegida) e Energia (n=8, gordura mais 500g milho)

Figura 6 - Variação na concentração de LH plasmático (média $\pm$ SD de amostras colhidas a cada 4 dias) em novilhas Nelore pré-púberes durante todo o período (total), antes, durante e após o período em que receberam três dietas diferentes: Controle (n=9, 500g milho), Gordura (n=8, mais 200g gordura protegida) e Energia (n=8, gordura mais 500g milho) (A, Área total de secreção de LH; B, Valor máximo de secreção de LH) (p=0,06).

Figura 7 - Variação na concentração de LH plasmático (média $\pm$ SD) em novilhas Nelore pré-púberes durante dois períodos de 17 dias (a cada 24 horas) (a) 15 dias ou (b) 60 dias após o início da dieta: Controle (n=9, 500g milho), Gordura (n=8, com adição de 200g gordura protegida) e Energia (n=8, com gordura mais 500g milho)

Antes do período de tratamento nutricional não houve diferença ($p=0,36$) entre os grupos Controle, Energia e Gordura: no número de picos ($1,63 \pm 0,7$; $2,25 \pm 1,2$; $1,6 \pm 1$, respectivamente, Figura 8) e área total da concentração de LH ($112,8 \pm 90$; $96,7 \pm 54,7$; $113,8 \pm 70$ ((ng/ml)min) nas amostras coletadas a cada 20 minutos durante 12 horas. Durante o período dos tratamentos nutricionais o grupo Gordura apresentou maior ($p=0,05$) número de picos de LH ($3,12 \pm 1,64$) que o grupo Energia ($1,86 \pm 0,90$) e o grupo Controle ($2,63 \pm 0,74$) que apresentou número intermediário de picos de LH. Não houve diferença nas médias das áreas totais de secreção de LH ($p>0,05$) entre os grupos Controle, Gordura e Energia tanto antes (12 e 13 meses de idade) quanto durante (15 e 16 meses de idade) o tratamento nutricional (Figura 8).

Figura 8 - Variação na concentração de LH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 20 min por 12 h de novilhas Nelore pré-púberes na fase de adaptação e pré-experimental (com 12 e 13 meses de idade), recebendo três dietas diferentes (com 15 e 16 meses de idade): Controle (500g milho, antes: n=4, durante: n=4), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, antes: n=4, durante: n=4) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, antes: n=4, durante: n=4) e após o fim da suplementação (16 meses)

Não houve diferença na média da concentração total de FSH entre os grupos Controle, Gordura e Energia antes ($0,87 \pm 0,38$ ng/ml, $0,76 \pm 0,25$ ng/ml,

0,83±0,30 ng/ml, $p=0,61$) e durante (0,95±0,43 ng/ml, 0,86±0,35 ng/ml, 0,86±0,33 ng/ml, $p=0,71$) os tratamentos (Figura 9). Nas concentrações de FSH realizadas a cada 24 horas durante 17 dias nos 10°, 12°, 14°, 16° mês de idade não houve diferença entre os grupos no 10° ($p=0,71$), no 12° ($p=0,51$), no 14° ($p=0,26$) e no 16° ($p=0,36$) meses (Figura 9). O grupo Controle apresentou maior área de secreção total de FSH (160,71± 38,37 (ng/ml)dia), $P=0,03$) quando comparado ao Gordura (118,67± 11,47 (ng/ml/dia)) e o grupo Energia apresentou uma área total intermediária (134,17±28,17 (ng/ml)dia)). Não houve diferença no valor máximo médio total de secreção de FSH entre os grupos Controle, Gordura e Energia (2,02±0,73 ng/ml; 1,41±0,21 ng/ml; 1,93±0,58 ng/ml; $p=0,11$). Quando analisamos a área total de secreção de FSH entre os grupos nos 10° e 12° (antes do fornecimento da dieta); 14° e 16° mês de idade (durante o fornecimento da dieta), o grupo Controle apresentou maior área de secreção de FSH (15,71±3,72 (ng/ml/dia), $p=0,06$) que o grupo Gordura (11,23±2,51 (ng/ml/dia)) e o grupo Energia com valor intermediário (14,17±4,22 (ng/ml/dia)) somente aos 14 meses de idade (início do tratamento com gordura, Figura 10). Não houve diferença estatística na área total de secreção de FSH entre os grupos ao 10° ($p=0,80$), 12° ($p=0,55$), e 16° ($p=0,35$) meses de idade. Não houve diferença no valor máximo médio total de secreção de FSH entre os grupos Controle, Gordura e Energia (2,02±0,73 ng/ml; 1,41±0,21 ng/ml; 1,93±0,58 ng/ml; $p=0,11$). Quando analisamos a valor máximo de secreção de FSH entre os grupos nos 10° e 12° (antes do fornecimento da dieta); 14° e 16° mês de idade (durante o fornecimento da dieta), o grupo Controle apresentou maior valor máximo de secreção de FSH (1,86±0,72 ng/ml, $p=0,08$) que o grupo Gordura (1,12±0,51 ng/ml) e o grupo Energia com valor intermediário (1,54±0,22 ng/ml) somente aos 14 meses de idade (início do tratamento com gordura, Figura 11). Não houve diferença estatística na valor máximo de secreção de FSH entre os grupos ao 10° ($p=0,89$), 12° ($p=0,78$), e 16° ($p=0,36$) meses de idade. Quando comparamos dentro de cada grupo a concentração média de FSH das amostras a cada 24hs durante 17 dias, não houve diferença antes e durante o tratamento dentro do grupo Controle ($p=0,20$), Gordura ($p=0,88$) e Energia ($p=0,45$).

Figura 9 - Variação na concentração de FSH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 24hs por 17 dias de novilhas Nelore pré-púberes antes (10 e 12 meses de idade) e recebendo três dietas diferentes (14 e 16 meses de idade): Controle (500g milho, n=8), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=8) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, n=8)

Figura 10 - Variação na área total de concentração de FSH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 24hs por 17 dias de novilhas Nelore pré-púberes antes (10 e 12 meses de idade, A) e recebendo três dietas diferentes (14 e 16 meses de idade, B): Controle (500g milho, n=8), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=8) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, n=8) (p=0,06).

Figura 11 - Variação no valor máximo de FSH plasmático (média $\pm$ SD) em amostras coletadas a cada 24hs por 17 dias de novilhas Nelore pré-púberes antes (10 e 12 meses de idade, A) e recebendo três dietas diferentes (14 e 16 meses de idade, B): Controle (500g milho, n=8), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=8) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, n=8) (p=0,08).

Não houve diferença ($p > 0,05$) na concentração média de leptina entre os grupos Controle, Gordura e Energia antes, durante e após os tratamentos, nas coletas realizadas a cada 10 dias do 13º ao 19º mês de idade. Não houve diferença na área total de secreção de leptina entre os grupos durante (Controle, $126,62 \pm 64,17$ (ng/ml/dia); Gordura, $135,00 \pm 74,35$ (ng/ml/dia); Energia, $120,22 \pm 62,32$ (ng/ml/dia); $p = 0,76$) e após (Controle, $279,60 \pm 129,68$ (ng/ml/dia), Gordura, $302,30 \pm 187,79$ (ng/ml/dia), Energia, $307,11 \pm 189,53$ (ng/ml/dia); $p = 0,94$) os tratamentos (Figura 12 e 13). Comparando dentro de cada grupo, os períodos antes e durante os tratamentos, todos os grupos apresentaram menor área total de secreção de leptina comparado ao período após os tratamentos (Controle: antes e durante $126,62 \pm 64,27$ e após $279,60 \pm 129,68$ (ng/ml/dia), $p = 0,003$; Gordura: antes e durante $135,00 \pm 74,35$ e após $302,30 \pm 187,79$ (ng/ml/dia), $p = 0,008$; Energia: antes e durante $120,22 \pm 62,32$ e após $307,11 \pm 189,53$ (ng/ml/dia), $p = 0,01$, Figura 13).

Após o período de tratamento, o grupo Energia apresentou maior valor máximo de secreção de leptina ($p=0,08$, $2,99\pm1,62$ ng/ml) que o grupo Controle ($1,71\pm0,77$ ng/ml) e o grupo Gordura apresentou valor intermediário ($2,87\pm1,57$ ng/ml). Não houve diferença na valor máximo de secreção de leptina entre os grupos antes e durante os tratamentos nutricionais ($p=0,49$, $2,46\pm0,96$, $2,03\pm1,26$ e $1,86\pm1,20$ ng/ml). Comparando dentro de cada grupo, o período antes e durante os tratamentos o grupo Gordura e Energia apresentaram menor valor máximo de secreção de leptina comparado ao período após os tratamentos (Gordura: antes e durante $2,03\pm1,26$ e após $2,87\pm1,57$ ng/ml, $p=0,052$; Energia: antes e durante $1,86\pm1,20$ e após $2,99\pm1,62$ ng/ml, $p=0,03$), e o grupo Controle (antes e durante $2,46\pm0,96$ e após $1,71\pm0,77$ ng/ml, $p=0,03$) apresentou maior valor máximo antes e durante o tratamento comparado ao período após o tratamento (Figura 13).

Figura 12 - Variação na concentração de leptina plasmática (média $\pm$ SD) em novilhas Nelores pré-púberes na fase pré-experimental (com 12,5 meses), recebendo três dietas diferentes (de 13 a 16 meses): Controle (500g milho, antes e durante, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, antes e durante, n=10) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, antes e durante, n=10) e após o fim da suplementação (17 a 19,6 meses de idade) (período representado entre as setas correspondente ao período que foram oferecidos os tratamentos nutricionais)

Figura 13 - Variação área total de concentração e valor máximo de leptina plasmática (média $\pm$ SD) em novilhas Nelores pré-púberes na fase pré-experimental (antes, com 12,5 meses), recebendo três dietas diferentes (durante, de 13 a 16 meses): Controle (500g milho, antes e durante, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, antes e durante, n=10) e Energia (com suplementação de gordura mais 500g milho, antes e durante, n=10) e após o fim da suplementação (17 a 19,6 meses de idade) (p=0,01 p=0,08).

Durante o período experimental, sete (7) animais entraram em cio e ovularam: uma novilha com 20 meses de idade no Grupo Controle (359 kg de peso vivo, 10% do grupo), no Grupo Gordura dois animais: um com 19 meses e outro com 20 meses de idade (ambos com 294 kg de peso vivo e média de 19,5 meses de idade, 20% do grupo) e no Grupo Energia quatro animais: um com 14 meses (com 246 kg), um com 18 meses (peso vivo de 329 kg) e dois animais com 20 meses de idade (um com 300 kg, e outro com 352 kg, Figura

14) a média de peso a ovulação do grupo Energia foi de 307 kg e 18 meses de idade, 40% dos animais do grupo Energia ovularam. Três animais foram excluídos por problemas de saúde diversos, durante o experimento.

Figura 14 - Progressão das ovulações de acordo com a idade e porcentagem total de novilhas ovuladas nos grupos Controle (500g milho, n=10), Gordura (com adição de 200g gordura protegida, n=10) e Energia (com suplementação de 200g de gordura mais 500g milho, n=10) até os 20 meses. A) Progressão das ovulações e B) % de novilhas ovuladas

11 DISCUSSÃO

Apesar do peso dos animais aumentar com a idade, não houve diferença no peso das novilhas entre os grupos, tanto antes, quanto durante ou depois do tratamento nutricional (Figura 1). No entanto observa-se que o peso dos animais do grupo controle aparentemente foi maior comparado ao peso dos animais suplementados, mas em função da grande dispersão a diferença não foi significativa, apesar de existir uma diferença de 13,5 kg nas médias dos pesos entre o grupo Controle e os demais grupos, esta diferença entre os grupos se manteve mesmo após os tratamentos e os animais se alimentando da mesma dieta.

A idade da primeira cobertura/concepção é determinante da vida produtiva de uma novilha, sendo a idade que este animal ovula a premissa que determinará se esta fêmea será competente em sua primeira estação de monta. Diversos fatores influenciam a idade com que esta novilha apresenta a primeira ovulação: peso corporal, ambiente em que vive, raça, genética, temperatura, nutrição, ganho de peso médio antes e após a desmama. O ganho de peso corporal após a desmama tem grande influência sobre a idade à puberdade. Animais que tem 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). No gado europeu a desmama precoce associada ao fornecimento de alta energia antecipou a idade a puberdade e aumentou o peso dos animais (MAQUIVAR, 2011). A idade à primeira ovulação nas novilhas zebuínas acontece ao redor de 22 a 36 meses, e a idade ao primeiro parto ao redor de 44 a 48 meses de idade (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 atingem a puberdade com menor idade (FERREL et al., 1991). No presente estudo, os três grupos não diferiram no ganho médio diário antes, durante e após os tratamentos nutricionais ministrados após a desmama, porém o grupo

que consumiu mais energia apresentou maior número de animais púberes até os 20 meses de idade, comparado aos demais grupos.

Nas avaliações das sobras de alimento no cocho (para ajuste da quantidade fornecida) foi possível observar que o grupo Gordura apresentou sobras de 30% enquanto no grupo Controle e Energia as sobras foram de 22% e 24% respectivamente. O grupo gordura apresentou mais sobra que o grupo Energia, sugerindo que o problema não seja a digestibilidade, mas sim a palatabilidade, uma vez que para o grupo Energia foi fornecida a mesma quantidade de gordura que o grupo gordura, porém adicionada de milho. A principal suposição é a de que embora a gordura protegida aumente a quantidade de energia na dieta, por outro lado provoca diminuição na ingestão de matéria seca (COOK et al., 2011), comprometendo o balanço energético a longo prazo. Isso pode ser suposto uma vez que as novilhas alimentadas com gordura ingeriram menos alimento, e apresentaram peso 6% (13,5 kg) inferior aos animais do grupo controle durante o fornecimento das dietas.

Nesse estudo adicionamos de uma fonte de gordura “by pass” na dieta dos animais (Megalac-E[®]), que é uma gordura granular composta por sais de cálcio de óleo de palma ou de soja. Esse produto contém ácidos graxos saturados, tais como o palmítico (óleo de palma) e esteárico e, poliinsaturados de cadeia longa, como o linolênico e predominantemente o linoléico (ARM & HAMMER, [2008]). O diâmetro do maior folículo tem sido utilizado como importante indicador de fertilidade em novilhas (PERRY et al. 2007). Todavia, foi observado em estudos que a suplementação da dieta com ácido linoléico ou linolênico, semelhante com as que contêm o Megalac-E[®] (Tabela 2), não alterou o diâmetro do folículo dominante (AMBROSE et al., 2006) e tanto o diâmetro quanto a taxa de crescimento do folículo pré-ovulatório (CHILDS et al., 2008; CERRI et al., 2009).

É possível identificar novilhas púberes, pelo maior diâmetro do maior folículo e maior peso comparadas as novilhas não púberes (MONTEIRO, 2011). O diâmetro do maior folículo não foi diferente entre os grupos controle e tratados, durante o período em que as novilhas receberam as dietas diferenciadas.

Outro indicador de fertilidade em fêmeas bovinas é a quantificação da população de folículos antrais, avaliando-se a reserva e a capacidade ovariana

(ALVAREZ et al., 2000; IRELAND et al., 2008). No presente trabalho os grupos que receberam gordura, (tanto o Gordura quanto o Energia), apresentaram menor número de folículos que o grupo controle durante a fase de tratamento. Esta diferença pode ter ocorrido pela diminuição no consumo de alimento provocado pela gordura. Diferente das novilhas pré púberes, em novilhas Nelore ciclando, o aumento da ingestão de energia afetou o recrutamento dos folículos pequenos, aumentando o número de folículos pequenos, com incremento de folículos menores que 4 mm mas não alterou a dominância, independente da fonte de gordura adicionada (GUTIERREZ et al., 1997; ARMSTRONG et al., 2002 ; NOGUEIRA et al., 2012). Nogueira et al. (2009) encontraram uma maior quantidade de folículos pequenos nos animais tratados com fontes de gordura, mas esse aumento pareceu ser independente das concentrações de FSH.

Os grupos que ingeriram gordura tiveram uma menor área e valor máximo máxima de secreção de FSH, principalmente no mês que foi iniciada a dieta diferenciada (14 meses de idade). Por outro lado novilhas em anestro induzido por um longo período de restrição na ingestão de matéria seca não apresentaram alterações na concentração de FSH (RHODES et al., 1996), ou novilhas suplementadas com 200% das exigências de manutenção por 3 semanas, também não apresentaram alterações na concentração deste hormônio (GUTIERREZ et al., 1997).

A elevação na concentração de LH é importante para aumentar o diâmetro do folículo dominante após o desvio no crescimento folicular, no entanto mesmo com dietas diferentes não foi observado esse aumento na concentração, porém se verificarmos a concentração e o número de picos de acordo com a idade dos animais, visualmente nos gráficos observamos um aumento conforme a idade dos animais, ficando bem claro no grupo Controle.

A nutrição é um importante fator que regula a secreção de LH nas fêmeas. O status energético do animal está ligado à maturação folicular e ovulação (SANTOS et al., 2008b), já que a energia fornecida pela suplementação com gordura aumenta a produção de propionato no rúmen, gliconeogênese hepática e, dessa forma, a produção de insulina, glicose e IGF-1 (NOGUEIRA, 2008). A glicose tem um efeito positivo sobre a secreção do hormônio luteinizante (FUNSTON, 2004), aumentando a frequência de pulsos

de LH e dessa forma o crescimento e maturação folicular (MATTOS et al., 2000). Mudanças severas e prolongadas na nutrição podem alterar a secreção de LH em bovinos por outro lado alterações por curtos períodos parecem não afetar a secreção pulsátil de LH e FSH (BOLAND et al., 2001). Após o tratamento nutricional o grupo Energia apresentou menor área na secreção de LH comparado aos demais grupos mas isso não foi o suficiente para influenciar o diâmetro do maior folículo neste período no grupo que consumiu mais energia. O grupo Gordura apresentou maior número de picos de LH comparado com o controle, isso pode ter ocorrido, pois a gordura influenciou a pulsatilidade de LH induzida pela maior concentração de glicose que esta proporciona ao interferir na gliconeogênese hepática, resultado não encontrado por Boland et al. (2001). Esses resultados nos dão mais indícios para supor que os grupos que consumiram gordura sofreram diminuição na ingestão de matéria seca e conseqüente diminuição na população folicular. A abordagem de coleta de amostras diariamente por 17 dias (janelas para avaliar onda folicular) não permitiu identificar diferenças na concentração de LH entre os grupos com diferentes tratamentos.

O peso é um fator determinante para a maioria das modificações associadas com a primeira ovulação (FOSTER; NAGATANE, 1999; GARCIA et al., 2002), já que são necessários peso e condição corporal compatíveis com a maturidade sexual para que o hipotálamo das novilhas aumente a frequência de pulsos de GnRH e determine a primeira ovulação (FERREL, 1991). Para que o hipotálamo reassuma a pulsatilidade e determine a secreção de LH levando à ovulação, há a necessidade da disponibilidade de energia metabólica, adquirida com o aumento das reservas de gordura, em conseqüência do crescimento das novilhas. O aumento no peso pode ser identificado pelo hipotálamo através da elevação na concentração da leptina (FOSTER; NAGATANI, 1999) e do IGF-I (JONES et al., 1991; ROBERTS et al., 1990) .

A concentração plasmática de leptina nas novilhas Nelore estudadas aumentou ($p < 0,05$) do 12º (durante os tratamentos) ao 19º mês de idade (após os tratamentos), simultaneamente ao 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. Essa mesma autora observou aumento no peso e na concentração de leptina a partir dos 12 meses de idade tanto em animais precoces quanto em não precoces. A leptina, sintetizada nos adipócitos (FRIEDMAN; HALAAS, 1998; ZHANG, et al., 1994), age como um sinal metabólico informando ao sistema nervoso central que existe reserva energética suficiente para suprir as demandas da atividade reprodutiva (BARASH et al., 1996).

A diminuição 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 (DIAZ-TORGA et al., 2001; GARCIA et al., 2002), 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). 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). Assim, a concentração de leptina seria uma boa referencia da gordura corporal em ruminantes (CHILLIARD et al., 1998; DELAVALAUD et al., 2000).

Acredita-se que os efeitos da leptina sobre a secreção de gonadotrofinas sejam mediados, em parte, pelo neuropeptídeo Y (NPY; KALRA; CROWLEY, 1992). Esse neuropeptídeo, localizado no hipotálamo, tem a capacidade de estimular ou inibir a liberação de GnRH (KALRA; KALRA, 1996) em resposta às condições metabólicas do animal.

As novilhas do grupo Energia apresentaram maior valor máximo de secreção de leptina após o fornecimento das dietas. Nos períodos antes e durante os tratamentos, todos os grupos apresentaram menor área total de secreção de leptina comparado ao período após os tratamentos, esse aumento foi, provavelmente, pelo aumento na idade dos animais. Terasawa e Fernandez, (2001) sugeriram ser o NPY um importante inibidor durante a pausa juvenil que antecede a entrada na puberdade, estando associado à ligação entre o controle da alimentação e a secreção de GnRH.

Em novilhas pré-púberes sob boas condições nutricionais, o tratamento com leptina não aumentou a secreção de LH (MACIEL et al., 2004a; ZIEBA et

al., 2004), se mostrando incapaz de acelerar o início da puberdade (MACIEL et al., 2004b). O efeito da administração de leptina sobre a secreção de LH somente pode ser notado em animais sob restrição alimentar (MACIEL et al., 2004a). Ao analisarmos a concentração, a área de secreção e o valor máximo de leptina, notamos que como o valor máximo foi maior no grupo Energia, este aumento do valor máximo da leptina plasmática, um produto fisiológico do balanço energético positivo, pode ter ocorrido em decorrência da quantidade de energia ingerida pelos animais, junto ao aumento no peso e parece que associados, a concentração plasmática de leptina e o peso corporal, podem ter influenciado a idade à primeira ovulação de novilhas Nelore.

A quantidade de Megalac-E[®] utilizada neste experimento (200 g/dia/animal) a fim de proporcionar algum resultado reprodutivo pode ter diminuído a ingestão de matéria seca. As causas da ausência do efeito esperado não podem ser determinadas com exatidão. A suplementação de novilhas Nelore com Megalac-E[®] (100 g/dia) não interferiu na reprodução apesar de ser a dose preconizada pelos fabricantes. (GUARDIEIRO et al., 2010),

O grupo controle obteve melhores resultados no número de folículos, em contrapartida tivemos mais animais ovulados no grupo Energia que nos demais. Esta melhor resposta pode estar ligada ao aumento da densidade energética oferecida no tratamento do grupo Energia (Megalac-E[®] mais milho).

A idade à puberdade para novilhas zebuínas no Brasil fica ao redor de 22 a 36 meses (SOUZA et al., 1995; ROMANO et al., 2007). Os fatores ambientais, principalmente o nível de alimentação, escore de condição corporal, peso, os ganhos de peso pré e pós-desmama são condições importantes na redução da idade à puberdade (PATTERSON et al., 1992; LOBATO, 1998). A nutrição pós desmame desempenha papel crítico na determinação da idade à puberdade (THALLMAN et al., 1999). A influência de diferentes tipos de dietas no período pós desmame tem sido bastante estudada (GASSER et al., 1996; GOJJAM et al., 2011). É importante salientar que apesar dos bovinos da raça zebuína serem mais tardios que os da raça taurina, é possível reduzir parcialmente a idade à puberdade através de manejo nutricional adequado. Podemos suspeitar que este atraso na idade a primeira ovulação pode ser consequência do genótipo dos animais, já que foram

animais provindos de rebanho comercial e vieram de uma propriedade que não faz pressão sobre seleção das novilhas para precocidade sexual, mantendo animais tardios no rebanho, com curva de crescimento estendida e primeira ovulação mais tardia que a média. Esperávamos que o manejo nutricional pudesse reverter o fator genético, mas isso não aconteceu com a intensidade esperada. Cerca de 40% dos animais do grupo Energia anteciparam a ovulação para 18 meses de idade, se separássemos 30% dos primeiros animais que ovularam ainda teríamos uma idade de ovulação média de 17 meses, ainda dois meses a mais que De Lucia et al. (2002) observaram (15 meses de idade) em 32% de um rebanho de novilhas Nelore confinadas e providas de um sistema de seleção de animais para precocidade sexual. Acreditamos que mesmo com essa diferença de idade e porcentagem de animais ovulados a pressão nutricional sobre o fator genético influenciou a idade à primeira ovulação. A suplementação com energia antecipou a redução da retroalimentação negativa de estradiol, que antecede a primeira ovulação (GASSER et al., 2006b). Isto provavelmente ocorreu pela maior ingestão de energia dada no tratamento do grupo Energia assim como o perfil nutricional da energia ingerida pelos animais.

É provável que a janela de suplementação utilizada neste experimento não esteja ajustada a idade a puberdade desta linhagem de Nelore. Gasser et al, (2006b) demonstrou em novilhas Angus x Simental que a suplementação dos 126 a 196 dias de idade atingiram a puberdade antes que novilhas suplementadas de 196 a 402 dias. Como o Nelore apresenta idade à primeira ovulação mais tardia, teremos que identificar em qual período a novilha está mais responsiva ao aumento da energia, Será importante considerar o efeito em diferentes linhagens do genótipo na resposta à “janela energética” dentro da raça Nelore. De acordo com LANNA (2004), cerca de 50% das novilhas meio sangue zebuínas estariam aptas para a reprodução aos 15 meses de idade, quando alimentadas para obtenção de alto ganho de peso diário. Entretanto, quando se fala de animais Nelore, aos 2 anos de idade os rebanhos ainda apresentam grande proporção de animais pré-púberes que provavelmente tem como causa o baixo peso corporal, baixo ganho de peso e a falta de reservas de gordura ligadas ao baixo escore de condição corporal (LANNA, 2004). Esses dados se assemelham aos dados de Monteiro (2011),

que observou a proporção de 52% e 48% de novilhas que manifestaram puberdade aos 24 meses de idade em rebanhos não selecionados e selecionados para peso.

12 CONCLUSÃO

A Gordura não elevou a concentração de leptina e LH, e não diminuiu a idade à primeira ovulação

A Gordura diminuiu o número de folículos, aumentou a frequência de pulsos de LH e diminuiu a concentração de FSH durante o início da suplementação.

A suplementação com Energia de energia diminuiu a área de concentração de LH e aumentou o valor máximo de concentração de leptina após o fornecimento desta energia.

13 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação energética alterou a concentração de hormônios e a dinâmica ovariana dos animais pré-púberes, fazendo com que estes alterassem sua resposta reprodutiva. Provavelmente a suplementação foi realizada em uma janela energética não tão adequada para as novilhas utilizadas neste experimento. Devido à grande variabilidade genética dentro da raça Nelore, mais pesquisas devem ser realizadas a fim de encontrar qual o melhor momento para se suplementar com energia um animal, dependente da sua linhagem ou biotipo, para que este antecipe a idade à primeira ovulação.

EXPERIMENTO 2

***INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE GORDURA PROTEGIDA NA DIETA DE
NOVILHAS NELORE (*Bos taurus indicus*) NA CICLICIDADE PÓS-PARTO***

RESUMO

O objetivo do trabalho foi verificar se o fornecimento de gordura protegida na dieta nos 60 dias finais da gestação aumenta o diâmetro do folículo pré-ovulatório e o número de folículos, alterando a ciclicidade no período pós-parto de novilhas Nelore primíparas com escore corporal de 2,5. Foram utilizadas 19 , com 24 a 27 meses de idade e peso vivo de 366kg. Foi realizada inseminação artificial em tempo fixo (IATF), para agrupar os nascimentos e prever a data do parto. Os tratamentos nutricionais foram realizados de 50 a 60 dias antes do parto previsto. As novilhas foram divididas em dois grupos: grupo Controle (GC, n=9) sem adição de gordura (250 g de milho moído/novilha /dia) e grupo Gordura (GG, n=10) com adição de gordura protegida (100 g de Megalac-E®/novilha/dia). Os animais foram mantidos em um escore corporal de 3,5 no período pré-parto, e diminuíram sendo mantidos com 2,5 até os noventa dias no pós-parto. Não houve diferença ($p=0,60$) no peso vivo dos animais entre os grupos, durante e após os tratamentos nutricionais. O GC obteve maior ganho médio diário aos 119 dias pós-parto ($p=0,011$, do 91° ao 119° dia pós-parto) comparado ao GG. O peso á ovulação foi maior GC que no GG ($p=0,03$). O diâmetro do segundo maior folículo foi maior no GC ($p=0,028$) que no GG. Houve um aumento no diâmetro do maior folículo no GC ($p=0,05$) e uma tendência no GG durante o período experimental. O GC apresentou menor número de folículos de 3 a 5 mm do 45° ao 60° dia pós-parto ($p=0,04$) que o GG. Os dois grupos apresentaram aumento na concentração de LH com o passar dos intervalos ($p<0,0001$ para o GC e $p=0,0024$ para GG). Entre o 15° e 30° dia pós-parto foi o período que apresentou menor área total de concentração de LH ($p<0,0001$) comparado aos demais intervalos dentro de cada grupo. GC e GG tiveram maior valor máximo de LH no intervalo de 75 a 90 dias ($p=0,03$ e $p=0,04$) quando comparado com os intervalos de 15 a 30 e de 30 a 45 dias pós-parto. As bezerras nascidas de vacas do GC obtiveram maior ganho médio diário nos primeiros 30 dias pós-parto ($0,88\pm0,15$ kg/dia, $p=0,05$) comparadas às bezerras do GG ($0,73\pm0,12$ kg/dia). Animais tratados com gordura no pré-parto apresentam um maior tempo para a primeira ovulação, menor quantidade de folículos secundários, acompanhada de menor peso vivo e menor ganho de peso no final do pós-parto.

14 INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que influenciam a reprodução, a nutrição tem papel importante, pois a reserva de energia é um importante aspecto relacionado ao desempenho reprodutivo na fêmea bovina (HAWKINS et al., 1995; MAGGIONI et al., 2008).

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). A densidade de energia da dieta interfere no crescimento folicular, ovulação e no desenvolvimento embrionário (RIGOLON et al., 2009).

As respostas à suplementação com óleo de soja (gordura protegida) foram avaliadas em novilhas peri-púberes por Whitney et al. 2000 e Brokaw et al. 2001.

Em experimento que as novilhas foram alimentadas individualmente, Whitney et al. (2000) atribuíram o maior ganho diário médio (GDM) e maior relação ganho:ração (G:R) nas novilhas alimentadas com óleo de soja a 3% da MS a aumento na glicemia resultante de maior produção ruminal de propionato. Em experimento realizado simultaneamente com novilhas alimentadas em currais, os animais que receberam a dieta com 3% de óleo de soja não tiveram um GDM maior, mas conceberam cerca de 11 dias mais cedo do que as novilhas que receberam dietas com 0% ou 6% de óleo de soja. A combinação de espaços confinados e interrupções no comportamento normal associadas à alimentação individual das novilhas, pode ter contribuído para a falta de diferença entre os tratamentos nos dias até a concepção no primeiro experimento de Whitney et al., (2000).

Hess et al. (2002) observaram que a suplementação de gordura aumentou as taxas globais de prenhez de 63,8% em 373 novilhas púberes não suplementadas com gordura para 73,6% em 363 novilhas arraçadas com gordura suplementar (apenas um estudo usou suplementação de gordura para aumentar a energia da dieta).

A viabilidade do uso de gordura na alimentação de novilhas de reposição foi recentemente questionada por Funston (2004). Com base em um resumo de

6 relatos, sugeriu que os benefícios limitados obtidos com a suplementação de gordura em novilhas de reposição bem desenvolvidas indicam que a gordura suplementar provavelmente seja justificada quando os suplementos de gordura tiverem preços comparáveis com os de outras fontes de energia (HESS, 2002).

Ainda que uma maior porcentagem de novilhas alimentadas com gordura tendeu a alcançar a puberdade antes da estação de monta (LAMMOGLIA et al., 2000), a puberdade tendeu a ser alcançada com maior idade se as novilhas eram pesadas e alimentadas com gordura suplementar (GARCIA et al., 2003).

Rhodes et al. (1978) e Lammoglia et al. (2000) relataram que as medidas da espessura de gordura subcutânea obtida com ultrassom eram maiores com a gordura suplementar nos dias 92 e 112. O número de novilhas que alcançou a puberdade foi menor no estudo de Rhodes et al. (1978).

Por isso é preciso ter cuidado para não promover um condicionamento excessivo das novilhas pela administração de gordura suplementar (HESS, 2002).

Também é possível que a resposta reprodutiva à gordura suplementar seja afetada pela duração do período em que as novilhas recebem a gordura (HESS, 2002).

Lammoglia et al. (2000) levantaram a hipótese de que um período de arraçoamento de 60 dias antes do início da estação de monta pode ter sido mais adequado do que o período prolongado, usado em seu experimento (162 dias) esta hipótese foi parcialmente baseada na observação de que a espessura de gordura subcutânea foi similar entre os tratamentos depois de 56 dias de administração e as novilhas mais magras (raça Piemontesa) responderam mais favoravelmente à gordura suplementar.

Hess et al. (2002) recomendaram que o uso de gordura suplementar para novilhas de corte durante 60 a 90 dias antes do início da estação de monta, porque segundo Lammoglia et al. (2000); Whitney et al. (2000) e Lloyd et al. (2002), os aumentos nas concentrações séricas de colesterol induzidos pela gordura da dieta em novilhas de corte pareceram alcançar um platô entre os dias 55 e 88 após a administração.

Alguns fatores são condicionantes para as maiores taxas de anestro pós-parto em vacas primíparas, dentre eles: 1) época da parição em relação ao

início da estação reprodutiva e, 2) escore condição corporal durante o período pré e pós-parto. Tais fatores são evidenciados principalmente pela distinta exigência nutricional das fêmeas primípara quando comparadas as fêmeas multíparas. Fêmeas de primeira cria apresentam o parto durante um período ainda de crescimento, determinando que além do estresse do parto, da produção de leite e dos cuidados com o bezerro essas fêmeas ainda necessitam dispensar nutrientes para crescer. Dessa forma, fêmeas mantidas em regimes exclusivamente a pasto tropical, freqüentemente são associadas a períodos de restrição alimentar, agravando o anestro pós-parto e reduzindo a eficiência reprodutiva. Para escapar deste problema ocorrido em primíparas, estratégias nutricionais devem ser desenvolvidas a fim de minimizar o anestro pós-parto, prolongando a vida útil deste animal no rebanho.

15 HIPÓTESE

O fornecimento de gordura protegida na dieta de novilhas Nelore primíparas altera a ciclicidade e diminui o tempo para a ovulação pós-parto em novilhas Nelore primíparas, com escore corporal 2,5, alimentadas com gordura protegida no terço final da gestação.

16 OBJETIVO GERAL

Verificar se o fornecimento de gordura protegida na dieta no terço final da gestação aumenta o diâmetro do folículo pré-ovulatório e o número de folículos, alterando a ciclicidade no período pós-parto de novilhas Nelore primíparas apresentando um escore corporal de 2,5.

16.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito gordura protegida, rica em ácidos graxos de cadeia longa (linoléico) na dieta de novilhas Nelore no terço final da gestação novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) sobre a ciclicidade pós-parto em animais alimentados com gordura no pré-parto refletida pela:

- Alterações de peso, ganho médio diário (GMD) e escore de condição corporal;
- diâmetro do maior folículo e número de folículos;
- concentração de LH no plasma e suas correlações;
- dias pós-parto

17 MATERIAL E MÉTODOS

17.1 LOCAL E ANIMAIS DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado de junho a dezembro de 2011 nas dependências do Campus da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba, localizada na região Noroeste do estado de São Paulo a 21°12'32" de latitude sul e 50°25'58" de longitude oeste e, a uma altitude média de 390 metros. No presente experimento foram utilizadas 19 novilhas Nelore contemporâneas, prenhes, com 24 a 27 meses de idade e peso vivo médio de 366 kg e escore de condição corporal médio de 3,25. Os animais eram identificados por brincos, vacinados contra clostridioses, brucelose e aftosa no local de origem e na universidade respeitando calendário sanitário, a vermifugação era realizada de acordo com a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) realizada individualmente. Foi realizada inseminação artificial em tempo fixo (IATF e ressincronizações) à partir de 24 meses de idade dos animais, utilizando sêmem sexado para fêmeas, na forma de agrupar os nascimentos e saber a data prevista do parto. Quinze dias antes do início dos tratamentos nutricionais, as novilhas foram alojadas em baias individuais para que se habituassem à rotina do confinamento, buscando assim evitar que a mudança de ambiente, nutrição e o estresse interferissem nos resultados do trabalho.

Após a fase de adaptação começou a fase de tratamento de 50 a 60 dias antes do parto previsto.

17.2 PESAGENS E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL

Os animais foram pesados em balança digital (TK-2000, móvel, Toledo®) a cada 10 dias no período pré-parto e a cada 7 dias no período pós-parto e

neste mesmo período foi mensurado o escore de condição corporal. Os animais foram mantidos em escore corporal médio 3,5 até o parto e mantidos a 2,5 de escore médio no pós-parto, para uma melhor avaliação do efeito da gordura na ciclicidade. Foi calculado o ganho médio diário no período pré-parto total, 30 dias e 60 dias antes do parto e no período pós-parto total, com 28 dias, 63, 91 e 119 dias no período pós-parto.

17.3 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

Todos os animais foram submetidos a protocolos de IATF, e foram inseminados com sêmem sexado para fêmeas de dois diferentes touros. O protocolo utilizado foi: D0 (P₄-8d) implante auricular de progesterona durante 8 dias (Crestar[®]), aplicação de 2 ml benzoato de estradiol (Gonadiol[®], IM, 1mg) no ato da aplicação do implante, PgF₂ α (D-cloprostenol, Preloban[®] 150 μ g, IM) e Ecg (Folligon[®], 400 UI, IM) na retirada do implante (D9), 48 horas após, aplicação de GnRH (Fertagyl[®], 10 μ g, IM) e inseminação dos animais 12 horas (60 h após retirada dos implantes). Os animais que retornaram ao cio e/ou com diagnóstico de gestação negativo foram agrupados e re-inseminados com o mesmo protocolo, programando assim o parto de todos os animais para o período seco (meses de junho, julho, agosto e setembro). Foi realizada uma ressincronização e entre o intervalo das duas IATFs os animais que retornavam ao cio antes do segundo protocolo, eram inseminados.

17.4 TRATAMENTO NUTRICIONAL

Para posterior avaliação dos efeitos da gordura na ciclicidade do pós-parto, as novilhas foram divididas em dois grupos aleatórios: grupo Controle (GC, n=9) sem adição de gordura na ração e grupo Gordura (GG, n=10) com

adição de gordura na ração (100 g /novilha /dia), tratadas aos 56 dias finais da gestação.

Os animais, com setenta e cinco dias da data provável de parição, foram acondicionados em baias individuais (15 dias de adaptação) onde receberam os tratamentos nutricionais diferenciados (60 dias da data prevista do parto). Aos animais foi oferecida dieta à base de 12 kg de bagaço de cana crú, polpa cítrica e uma ração concentrada, produzida à base de milho, farelo de soja, farelo de algodão, uréia e minerais, divididos e oferecidos em dois períodos com intervalo de tempo entre eles de 8 horas, manhã (70%) e tarde (30%). Animais do Grupo Controle receberam 2 kg de ração comercial para bovinos de corte somados a 250g de milho moído por dia. Animais do Grupo Gordura receberam 2 kg de ração crescimento para bovinos de corte (Exito Rural®) somados a 100g de gordura protegida por dia (sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa, Megalac-E®). A dieta foi calculada para se assemelhar as condições dadas pelas pastagens tropicais (Tabelas 4 e 5).

A cada 7 dias era fornecido um complexo vitamínico comercial (Vitagold®, Tortuga) na dose de 5ml/animal, para atender as exigências de vitaminas dos animais, além de sal mineral e água fornecidos *ad libitum* para todos os grupos.

A diferença entre as dietas experimentais foi a fonte de energia fornecida, mantendo de forma similar o nível diário de ingestão dos principais macro e micronutrientes.

Após o dia do parto, foram interrompidos os tratamentos nutricionais (milho e gordura) e todos os animais receberam a mesma quantidade de volumoso e concentrado da dieta pré-parto. Além de serem alocados em confinamento comunitário. Uma vez por semana era medida a sobra deste confinamento para controle da quantidade de bagaço de cana-de-açúcar que era oferecido.

Tabela 4 - Composição das dietas fornecidas durante o pré-parto.

Ingrediente (kg)	Dietas	
	Controle	Gordura
Fosfato 18,5%	0,01	0,01
Sal branco (NaCl)	0,01	0,01
Calcáreo	0,004	0,004
S. Cobre	0,0004	0,0004
S. Zinco	0,0004	0,0004
S. Cobalto	0	0
Polpa	5,2	5,2
Milho	0,43	0,18
F. Algodão	0,5	0,5
F. Soja	0,075	0,075
Uréia	0,038	0,038
Monensina 10%	0,0003	0,0003
Bagaço de Cana	12,00	12,00
Gordura Protegida	-	0,100

Tabela 5 - Composição das dietas fornecidas durante o pré-parto (níveis de garantia).

Nutrientes	Dietas	
	Controle	Gordura
Umidade (Máx)	36,48%	36,65%
Proteína Bruta (Min)	4,69%	4,62%
Extrato Etéreo (Min)	0,20%	0,46%
Matéria Mineral (Min)	10,10%	10,15%
Matéria Fibrosa (Max)	66,78%	66,99%
Extrato Não Nitrogenado	7,85%	7,02%
Cálcio (Max)	1,60%	1,61%
Fósforo (Min)	0,02%	0,02%
Sódio (Min)	0,02%	0,03%
Cobre (mg/kg)	5,26	5,30
Cobalto (mg/kg)	0,46	0,46
Zinco (mg/kg)	7,67	7,73
Manganês (mg/kg)	-	-
Iodo (mg/kg)	0,13	0,13
Selenio (mg/kg)	0,03	0,03
Monensina (mg/kg)	1,37	1,38
Energia Met.: (MJ/kg):	7,34	7,39

17.5 AVALIAÇÃO OVARIANA PÓS-PARTO

O exame dos ovários foi conduzido todos os dias (a cada 24 horas) da segunda semana até 90 dias no período pós-parto e a cada 4 dias por mais 30 dias, somando 120 dias após os nascimentos, para acompanhamento da atividade ovariana dos animais (primíparas) neste período.

Os exames dos ovários e do útero (para diagnóstico de gestação após a IATF antes do início do experimento) foram feitos de acordo com Ginther et al, (1996). Após a contenção da novilha no tronco e retirada das fezes do reto, o transdutor recoberto por uma camada fina de gel (carboximetilcelulose - sal sódico USP/F,C,C - 500g; Synth[®]) foi introduzido com a face dos cristais voltada ventralmente, orientadas pela superfície dorsal dos órgãos genitais internos. Durante a passagem do transdutor sobre a cérvix e corpo do útero, foram realizados movimentos latero-laterais para avaliação destas estruturas. Em seguida, o transdutor foi direcionado no sentido de cada ovário, buscando posicioná-los sob o transdutor e, com movimentos e latero-laterais, os ovários foram avaliados quanto ao número, localização e diâmetro de cada folículo e presença de corpo lúteo.

A cada dia a posição, o diâmetro e o número de folículos $\geq 3\text{mm}$ foram anotados em fichas individuais para posterior tabulação. A imagem foi congelada na área aparente de maior distância entre as bordas do folículo e a mensuração do antro foi feita na altura e largura da imagem, com os marcadores (calipers) do ultra-som. O diâmetro estimado era obtido através da média dos valores mensurados.

As medidas dos três maiores folículos dos dois ovários foram colocados em gráficos e analisados visualmente para a identificação de ondas de crescimento folicular de cada animal.

Foi utilizado um aparelho de ultra-sonografia Prosound 2 (ALOKA®) equipado com um transdutor linear multifrequencial de 6 MHz para uso trans-retal.

17.6 COLHEITA DE SANGUE E QUANTIFICAÇÃO HORMONAL

As amostras de sangue foram coletadas a cada 24h da segunda semana até 90 dias no período pós-parto e a cada 4 dias por mais 30 dias, somando 120 dias após os nascimentos. As amostras foram colhidas da jugular em tubos contendo EDTA 10% de 10 ml (sistema Vacutainer®), refrigerados a 4°C e centrifugados a 1372 g por 15 min para a separação do plasma (centrifuga Fanen® Excelsa Baby I modelo 206) e posteriormente aliquotados em duplicata em microtubos de polipropileno (Axigen Scietific MCT-200B 2,0ml) e armazenados a -20°C até a realização dos ensaios. As amostras permaneceram armazenadas até a realização do radioimunoensaio para quantificação de LH.

Os ensaios para quantificação do LH bovinos foram adaptados dos descritos por Bolt et al., (1990), realizados no Laboratório de Endocrinologia Animal da FMVA/Unesp de Araçatuba.

O coeficiente de variação intra-ensaio do LH foi de 5,28% para o controle alto (2,07 ng/mL) e de 4,41% para o controle baixo (0,56 ng/mL); o CV inter-ensaio foi de 8,92% para o controle alto e 7,09% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios de LH foi de 0,036 ng/mL.

17.7 ANÁLISE BROMATOLÓGICA DAS DIETAS DO EXPERIMENTO

As análises das dietas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da UNESP/FMVA, em Araçatuba-SP, Para determinação do material realmente ingerido pelos animais, no que diz respeito à mistura de bagaço de cana e

polpa cítrica, foram retiradas duas amostras semanais do volumoso oferecido e das respectivas sobras, uma à tarde e outra antes do fornecimento no dia seguinte. As coletas foram realizadas sempre homogeneizando o conteúdo do cocho e retirando uma amostra. Após as coletas, as amostras foram armazenadas a 4°C para posterior análise bromatológica, seguindo as recomendações de Silva e Queiroz (2002). Ao final do experimento, as amostras foram pré-secadas por 72 h em estufa TE 394-3 (Tecnal[®]) de circulação forçada de ar, a 55 - 60°C e moídas em moinho de facas do tipo Willey TE650 (Tecnal[®]), dotado de peneira com perfurações de 1 mm. Na análise bromatológica, as amostras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS) a 105°C e proteína bruta (PB), utilizando o método seqüencial.

Após as análises bromatológicas, os dados foram analisados para obtenção da IMS%PV (ingestão de matéria seca em porcentagem sobre o peso vivo dos animais), a IMS (Ingestão de matéria seca em kg) e IPB (ingestão de proteína bruta em kg).

17.8 PESAGEM DAS BEZERRAS E MAMADA CONTROLADA

As novilhas do experimento pariram um total de 19 bezerros, 16 fêmeas e 3 machos. Uma novilha que apresentou laceração de vulva e não produziu leite, foi excluída do experimento e a bezerra que foi amamentada artificialmente e os três machos nascidos também foram retirados das coletas de dados e análises. As bezerras nascidas foram pesadas no dia do nascimento e a cada sete dias durante o pós-parto (120 dias).

Para verificar a influência da nutrição pré-parto na produção de leite da vaca e no crescimento da bezerra, a cada 30 dias as bezerras foram privadas da mamada, “overnight” e na manhã seguinte eram pesadas e depois soltas com suas respectivas mães por 15 minutos. Após esse período de amamentação, os animais eram pesados para verificar o aumento do peso da bezerra, inferindo a produção de leite da mãe e a ingestão de leite pela filha.

17.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados da concentração de gonadotrofinas foram transformados em logarítimos ($\text{Log}(x+1)$) quando não passaram nos testes de normalidade e homogeneidade de variância dos resíduos (Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises e Anderson-Darling). Utilizando-se o programa GrafPad Prism[®] versão 3 for Windows foi calculada a área total do pico de secreção de LH, valor máximo máxima, o tempo para o primeiro pico, o número de picos e a área de secreção total de LH, para comparação entre os grupos. Foi utilizado o teste de análise de variâncias (ANOVA, PROCGLM) para medidas repetidas utilizando como pós-teste o teste de Tukey para comparação de médias do programa SAS[®] (Statistical Analysis System, 1998). Utilizou-se o programa GrafPad[®] InStat versão para Windows para comparar as médias de porcentagens de peso das bezerras em relação á mãe entre os grupos. Os resultados estão apresentados como média $\pm$ SD dos dados originais e medianas dos dados foliculares, considerando o nível de significância de 5% ($p<0,05$).

18 RESULTADOS

Os animais tiveram uma média de escore corporal de 3,5 no período pré-parto, e foram diminuindo o escore de condição corporal médio até atingirem 2,5 (em uma escala de 1 a 5) e mantidos com esse escore até os noventa dias após o nascimento dos bezerros. Não houve diferença no peso corporal dos animais entre os grupos Controle e Gordura, tanto durante ($p=0,60$; 467 ± 42 kg e 462 ± 30 kg) os tratamentos nutricionais quanto após o parto ($p=0,44$) o peso das vacas do grupo Controle foi semelhante (429 ± 38 kg) ao peso médio das vacas que ingeriram Gordura (417 ± 27 kg; Figura 15). Não houve diferença no ganho médio diário entre os animais dos grupos Controle e Gordura durante os tratamentos no pré-parto total ($p=0,44$; $0,43\pm0,20$ kg/dia e $0,51\pm0,25$ kg/dia), com 30 dias ($p=0,59$; $0,45\pm0,30$ kg e $0,37\pm0,27$ kg) e 60 dias ($p=0,25$; $0,51\pm0,18$ kg e $0,66\pm0,34$ kg) após o início das dietas. Não houve diferença no ganho médio diário no período pós-parto ($p=0,52$) entre os grupos Controle ($-0,08\pm0,09$ kg/dia) e Gordura ($-0,11\pm0,04$ kg/dia; Figura 2). O grupo Controle obteve maior ganho médio diário aos 119 dias pós-parto ($0,16\pm0,11$ kg/dia, $p=0,011$, do 91° ao 119° dia pós-parto) comparado ao grupo Gordura ($0,04\pm0,03$ kg/dia, Figura 16). Não houve diferença no ganho médio diário entre os grupos Controle e Gordura nos demais períodos pós-parto, aos 28 dias ($-0,19\pm0,12$ e $-0,31\pm0,16$ kg/dia, $p=0,58$), aos 63 dias ($-0,16\pm0,11$ e $-0,18\pm0,12$ kg/dia, $p=0,91$) e aos 91 dias ($0,02\pm0,11$ e $0,00\pm0,12$ kg/dia, $p=0,55$, Figura 16).

Seis animais ovularam até os 120 dias pós-parto, três ($n=10$) do grupo Gordura, (aos 109, 120 e 149 dias pós-parto) e três ($n=8$) do Controle, (aos 57, 98, 114 dias pós-parto). Na Figura 17 é possível observar a diferença ($p=0,053$) na percentagem acumulativa para a primeira ovulação pós-parto em função do tempo entre o grupo Gordura (126 ± 21 dias) e o Controle (90 ± 29 dias). O peso a primeira ovulação foi maior ($p=0,03$) no grupo controle (438 ± 32 kg) que no grupo que recebeu gordura no pré-parto (388 ± 30 kg).

Não houve diferença ($p=0,48$) na ingestão média de proteína bruta entre os grupos Controle ($0,89\pm0,14$ kg/dia) e Gordura ($0,92\pm0,11$ kg/dia), na ingestão de matéria seca ($p=0,52$, Controle $8,72\pm1,10$ kg/dia e Gordura

8,62±1,12 kg/dia) e na ingestão de matéria seca em relação ao peso vivo ($p=0,22$, Controle 1,87±0,24% e Gordura 1,88±0,23%) durante o período do tratamento nutricional (Figura 18).

Figura 15 - Variação do peso corporal (média±SD) em vacas Nelore primíparas durante o tratamento no pré-parto (Controle com 250g/dia milho, $n=8$; Gordura, 250g milho mais 100g gordura protegida/dia, $n=10$, 75 dias) e após o parto (120 dias).

Figura 16 - Variação do Ganho médio diário (média±SD) em vacas Nelore primíparas durante o tratamento no pré-parto (Controle com 250g/dia milho, $n=8$; Gordura, 250g milho mais 100g gordura protegida/dia, $n=10$, Total, nos 30 e 70 dias pré-parto, gráfico A) e após o parto (Total, com 28, 63, 91 e 119 dias pós-parto, gráfico B)

Figura 17 - Variação do percentual acumulativo da primeira ovulação no pós-parto em vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) e Gordura (250g milho e 100g gordura protegida/dia, n=10)

Figura 18 - Variação na ingestão média de proteína bruta (kg/dia), na ingestão de matéria seca (kg/dia) e na ingestão de matéria seca em relação ao peso vivo (%) (média±SD) em vacas Nelore primíparas durante o tratamento no pré-parto (Controle com 250g/dia milho, n=8; Gordura, 100g gordura protegida/dia, n=10).

A média do número de folículos (maior ou igual a 3 mm a cada dia) nos ovários não variou ($p=0,16$) entre os grupos quando consideramos todo o período de 15 a 90 dias no pós-parto (controle 11 ± 3 e gordura 13 ± 3). O

diâmetro médio do maior folículo durante o pós-parto, não foi diferente ($p=0,31$) entre o grupo Controle ($10,05\pm1,63\text{mm}$) e Gordura ($9,52\pm1,94\text{mm}$), a média do diâmetro do segundo maior folículo nos 100 dias que sucederam o parto, foi maior no grupo controle ($7,14\pm1,5\text{ mm}$, $p=0,028$) que nos animais que receberam gordura ($6,36\pm1,6\text{ mm}$, Figura 19). Quando dividimos o período pós-parto em intervalos de 15 dias, não houve diferença no diâmetro do maior folículo a cada intervalo entre os grupos Controle e Gordura do 15° ao 30° dia ($9,17\pm1,52$ e $9,07\pm1,74\text{mm}$, $p=0,88$), do 30° ao 45° dia ($10,13\pm1,78$ e $9,14\pm1,76\text{mm}$, $p=0,19$), do 45° ao 60° dia ($10,49\pm1,78$ e $9,71\pm1,85\text{mm}$, $p=0,28$), do 60° ao 75° ($10,13\pm1,41$ e $9,50\pm2,20\text{mm}$, $p=0,45$) e do 75° ao 90° dia pós-parto ($10,36\pm1,20$ e $10,18\pm1,93\text{mm}$, $p=0,77$). Houve um aumento no diâmetro do maior folículo no grupo Controle ($9,17\pm1,52$ inicial e $10,36\pm1,20\text{mm}$ final, $p=0,05$) e uma tendência no grupo Gordura ($9,07\pm1,74$ inicial e $10,18\pm1,93\text{mm}$ final, $p=0,10$), quando comparamos os 15 primeiros dias (30 dias pós-parto) com os 15 últimos dias (90 dias pós-parto) dentro de cada grupo. Quando dividimos o período pós-parto em intervalos de 15 dias, não houve diferença no número de folículos a cada dia entre os grupos Controle e Gordura do 15° ao 30° dia ($10,12\pm2,56$ e $12,08\pm3,44$, $p=0,13$), do 30° ao 45° dia ($8,69\pm3,09$ e $10,59\pm3,20$, $p=0,17$), do 60° ao 75° dia ($9,28\pm3,16$ e $12,02\pm4,23$, $p=0,14$) e do 75° ao 90° dia pós-parto ($9,33\pm3,30$ e $11,41\pm3,91$, $p=0,24$).

Quando dividimos os folículos em categorias pelo diâmetro nos intervalos de 15 dias, em folículos de 3 a 5 mm, não houve diferença no número de folículos entre os grupos Controle e Gordura do 15° ao 30° dia ($7,66\pm2,54$ e $10,06\pm3,81$, $p=0,09$), do 30° ao 45° dia ($11,10\pm2,84$ e $12,39\pm2,88$, $p=0,29$), do 45° ao 60° dia ($10,95\pm2,70$ e $13,12\pm3,04$, $p=0,07$), do 60° ao 75° dia ($11,83\pm3,05$ e $14,03\pm3,61$, $p=0,17$) e do 75° ao 90° dia pós-parto ($11,86\pm3,05$ e $13,71\pm3,72$, $p=0,26$). O grupo Controle apresentou menor número de folículos de 3 a 5 mm do 45° ao 60° dia pós-parto ($8,29\pm2,75$, $p=0,04$) quando comparado ao grupo Gordura ($11,21\pm3,51$).

Considerando folículos de 6 a 9 mm de diâmetro, não houve diferença no número de folículos entre os grupos Controle e Gordura do 15° ao 30° dia ($2,03\pm1,00$ e $1,68\pm1,08$, $p=0,12$), do 30° ao 45° dia ($1,78\pm1,09$ e $1,37\pm0,88$, $p=0,06$), do 60° ao 75° dia ($1,83\pm1,02$ e $1,44\pm1,05$, $p=0,16$) e do 75° ao 90° dia pós-parto ($1,69\pm1,11$ e $1,59\pm1,04$, $p=0,60$). O grupo Controle apresentou maior

número de folículos de 6 a 9 mm do 45° ao 60° dia pós-parto ($1,89 \pm 1,07$, $p=0,008$) quando comparado ao grupo Gordura ($1,21 \pm 1,02$).

Em folículos de 10 a 14 mm de diâmetro, não houve diferença no número de folículos a cada dia entre os grupos Controle e Gordura do 15° ao 30° dia ($0,42 \pm 0,59$ e $0,34 \pm 0,52$, $p=0,70$), do 30° ao 45° dia ($0,60 \pm 0,57$ e $0,43 \pm 0,48$, $p=0,35$), do 45° ao 60° dia pós-parto ($0,75 \pm 0,59$ e $0,70 \pm 0,51$, $p=0,75$), do 60° ao 75° dia ($0,71 \pm 0,54$ e $0,57 \pm 0,51$, $p=0,70$) e do 75° ao 90° dia pós-parto ($0,84 \pm 0,48$ e $0,71 \pm 0,51$, $p=0,41$).

Não houve diferença no número de ondas foliculares entre os grupos Controle ($8,38 \pm 1,06$) e Gordura ($7,88 \pm 1,13$, $p=0,37$) do 15° ao 90° dia pós-parto, período que foram realizados exames ultrassonográficos a cada 24 horas (Figura 19).

Figura 19 - Variação média diária do número de folículos (maiores que 3 mm), diâmetro do maior e do segundo maior folículo (média $\pm$ SD) e número de ondas (até 90 dias) no pós parto em vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, $n=8$) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, $n=10$)

Não houve diferença ($p>0,05$) na concentração de LH média diária entre os grupos Controle e Gordura, durante o período pós-parto, nas amostras coletadas a cada 24 horas entre os 15 e os 90 dias e a cada 4 dias até

completarem 120 dias (Figura 20). Quando analisamos os intervalos dentro de cada grupo, os dois grupos apresentaram aumento na secreção de LH com o passar dos intervalos ($p < 0,0001$ para o Controle e $p = 0,0024$ para o grupo Gordura). Quando dividimos o período pós-parto em fases de 15 dias, não houve diferença ($p > 0,05$) na concentração de LH média entre os grupos Controle e Gordura, durante essas fases, dos 15 aos 30 dias ($0,75 \pm 0,59$ e $0,70 \pm 0,51$ ng/ml, $p = 0,75$), 30 aos 45 dias ($0,75 \pm 0,59$ e $0,70 \pm 0,51$ ng/ml, $p = 0,75$), 45 aos 60 dias ($0,75 \pm 0,59$ e $0,70 \pm 0,51$ ng/ml, $p = 0,75$), 60 aos 75 dias ($0,75 \pm 0,59$ e $0,70 \pm 0,51$ ng/ml, $p = 0,75$), 75 aos 90 dias ($0,75 \pm 0,59$ e $0,70 \pm 0,51$ ng/ml, $p = 0,75$) e 90 a 105 dias.

Não houve diferença na área total de concentração de LH entre os grupos Controle e Gordura do 15° ao 30° dia ($3,70 \pm 0,54$ e $3,84 \pm 0,84$ (ng/ml/dia), $p = 0,69$), 30° ao 45° dia ($4,84 \pm 1,03$ e $4,87 \pm 1,13$ (ng/ml/dia), $p = 0,95$), 45° ao 60° dia ($5,15 \pm 0,83$ e $4,83 \pm 1,09$ (ng/ml/dia), $p = 0,50$), 60° ao 75° dia ($5,30 \pm 1,18$ e $5,43 \pm 1,71$ (ng/ml/dia), $p = 0,86$) e 75° a 90° dia pós-parto ($5,83 \pm 1,49$ e $6,10 \pm 1,71$ (ng/ml/dia), $p = 0,74$). Quando comparamos os intervalos dentro de cada grupo, Controle e Gordura tiveram maior Área Total de concentração de LH no intervalo de 75 a 90 dias ($5,83 \pm 1,49$ e $6,10 \pm 1,71$ (ng/ml/dia), $p < 0,001$) comparados aos intervalos, 30 a 45 e 45 a 60 dias e o intervalo de 15 a 30 dias pós-parto apresentou a menor área total de concentração de LH comparado aos demais intervalos. Não houve diferença entre 75 a 90 dias ($p > 0,05$) e 60 a 75 dias pós-parto, e entre 15 a 30 e 30 a 45 dias pós-parto. O intervalo entre o 15° ao 30° dia pós-parto foi o que apresentou menor área total de concentração de LH ($p < 0,0001$) comparado aos demais intervalos dentro de cada grupo (não houve interação entre grupos e intervalo, $p = 0,85$, Figura 21).

Não houve diferença na valor máximo de secreção de LH entre os grupos do 15° ao 30° dia ($0,44 \pm 0,09$ e $0,49 \pm 0,12$ ng/ml, $p = 0,32$), 30° ao 45° dia ($0,53 \pm 0,13$ e $0,55 \pm 0,15$ ng/ml, $p = 0,71$), 45° ao 60° dia ($0,59 \pm 0,14$ e $0,59 \pm 0,21$ ng/ml, $p = 0,96$), 60° ao 75° dia ($0,61 \pm 0,21$ e $0,67 \pm 0,21$ ng/ml, $p = 0,56$) e 75° a 90° dia pós-parto ($0,71 \pm 0,26$ e $0,80 \pm 0,46$ ng/ml, $p = 0,65$). Quando comparamos os intervalos dentro de cada grupo, Controle e Gordura tiveram maior valor máximo de secreção de LH no intervalo de 75 a 90 dias ($p = 0,03$ e $p = 0,04$) quando comparado com os intervalos de 15 a 30 e de 30 a 45 dias pós-parto

(não houve interação entre grupos e intervalo, $p=0,97$, Figura 21).

Figura 20 - Variação da concentração de LH (média $\pm$ SD) no período pós-parto em vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, $n=8$) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, $n=10$). Entre os 15 e os 90 dias as amostras foram coletadas a cada 24 horas e entre 91 e 120 dias a cada 4 dias. Gráfico A: concentração total de LH durante todo o período experimental e gráfico B concentração de LH dividida em intervalos de 30 dias.

Figura 21 - Variação da área total e valor máximo de secreção de LH (média±SD) entre os 15 e 90 dias pós-parto em amostras coletadas a cada 24 horas de vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=8) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=10), (letras minúsculas representam a diferença entre os intervalos quinzenais dentro de cada grupos).

Não houve diferença no peso vivo das bezerras entre os grupos Controle e Gordura ($p=0,66$) durante o período pós-parto. Não houve diferença no peso vivo ao nascimento das bezerras nascidas de vacas do grupo Controle ($34,3\pm2,58$ kg, $p=0,18$) comparado as bezerras nascidas de vacas que ingeriram Gordura no período pré-parto ($31,75\pm4,62$ kg; Figura 22). Quando comparamos a % de peso da bezerra ao nascimento em relação ao peso vivo da mãe, não houve diferença nas médias de porcentagem entre os grupos ($p=0,45$, GC $7,07\pm0,64\%$; GG $6,72\pm0,93\%$).

As bezerras do grupo Controle obtiveram maior ganho médio diário nos primeiros 30 dias pós-parto ($0,88\pm0,15$ kg/dia, $p=0,05$) comparadas às bezerras

nascidas de vacas tratadas com gordura no pré-parto ($0,73 \pm 0,12$ kg/dia, Figura 8). Não houve diferença no ganho médio diário de peso das bezerras entre os grupos Controle e Gordura nos demais períodos pós-parto, total ($0,78 \pm 0,17$ e $0,73 \pm 0,16$ kg/dia, $p=0,64$), aos 60 dias ($0,88 \pm 0,15$ e $0,73 \pm 0,12$ kg/dia, $p=0,71$), aos 90 dias ($0,73 \pm 0,20$ e $0,73 \pm 0,15$ kg/dia, $p=0,99$) e aos 120 dias ($0,77 \pm 0,16$ e $0,73 \pm 0,25$ kg/dia, $p=0,52$, Figura 22). Não houve diferença entre as porcentagens de peso das bezerras em relação à mãe entre os grupos Controle ($7,08 \pm 0,65\%$, $p=0,45$) e Gordura ($6,76 \pm 0,89\%$).

Figura 22 - Variação do peso ao nascimento (Gráfico A), peso médio durante o experimento (Gráfico B) e ganho médio diário durante o experimento e divididos em intervalos de 30 dias (Gráfico C) das bezerras (média $\pm$ SD) no período pós-parto (total, 30, 60, 90 e 120 dias) nascidas de vacas Nelore primíparas tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, $n=7$) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, $n=8$).

Não houve diferença no ganho de peso por mamada das bezerras entre os grupos Controle e Gordura no período pós-parto em após restrição “overnight” e mamada por 15 minutos, aos 20 dias ($3,36 \pm 2,5$ e $4,5 \pm 1,60$ kg, $p=0,30$), aos 46 dias ($3,93 \pm 2,26$ e $5,00 \pm 3,09$ kg, $p=0,46$), aos 81 dias ($3,71 \pm 1,55$ e $3,31 \pm 1,65$ kg, $p=0,63$) e aos 108 dias ($2,93 \pm 0,93$ e $3,19 \pm 1,25$ kg, $p=0,66$, Figura 23). Não houve correlação ($p>0,05$) entre peso por mamada das bezerras e tempo para a primeira ovulação entre os grupos.

Figura 23 - Variação da produção de leite estimada por mamada das bezerras (média $\pm$ SD) no período pós-parto (20, 46, 81 e 108 dias) nascidas de vacas Nelore primíparas

tratadas ou não no terço final da gestação: Controle (250g/dia milho, n=7) ou Gordura (100g gordura protegida/dia, n=8).

19 DISCUSSÃO

O fornecimento de gordura no pré-parto não antecipou a primeira ovulação no pós-parto em novilhas primíparas mantidas com escore corporal 2,5. Pelo contrário as tratadas com gordura no pré-parto, em média ovularam mais tarde e mais leves se comparadas com as novilhas do grupo controle.

Não observamos diferença no peso vivo entre os grupos antes do parto, durante o período de tratamento nutricional nem após o parto. Apesar do relato de que o fornecimento de gordura diminuiu o consumo voluntário de matéria seca em vacas (COOK et al., 2011), não foi observada diferença no consumo de alimento entre as novilhas Nelore tratadas ou não com gordura. Isto pode ser consequência da reduzida quantidade de gordura (100 g/dia) fornecida aos animais, recomendação máxima feita pelo fabricante para novilhas de corte em final de gestação. Provavelmente a gordura pode ter interferido na ingestão de matéria seca aumentando o tempo necessário à primeira ovulação no período pós-parto. O grupo controle obteve maior ganho médio diário aos 119 dias no pós-parto, mas provavelmente essa diferença não tenha relação com o período de tratamento no terço final da gestação por se tratar de um período muito tardio em relação ao pré-parto.

Um fato bem estabelecido é que o desempenho reprodutivo de fêmeas de corte pode ser melhorado com manejo nutricional durante o terço final de gestação, de forma que garanta um aceitável ECC ao parto e/ou início da estação de monta (SHORT et al., 1990). Os 90 dias que antecedem o parto é um período crítico no ciclo de produção da vaca. O feto cresce rapidamente durante o terço final da gestação, com aproximadamente 80% do crescimento ocorrendo durante este período (NRC, 2006). Neste período da gestação, a vaca deve ganhar cerca de 0,5 kg/dia na forma de crescimento do bezerro, fluídos uterinos associados e membranas. É extremamente importante ter vacas em condições corporais adequadas ao parto para obter menor tempo para o primeiro estro e maior taxa de concepção no primeiro serviço (COOKE et al., 2009), produção suficiente de colostro e garantir que o bezerro nasça saudável. Alguns estudos indicaram que vacas *Bos taurus* com ECC 2 ao parto e durante a estação de monta, tiveram reduzidas as taxas de prenhes em comparação com vacas com ECC 2,5 ou superior (KUNKLE; SAND, 2003). Por

isso recomenda-se aos produtores manter vacas de corte em ECC de 2,5-3 ao parto. Isso fornece à vaca ou novilha reservas adequadas de energia durante a fase inicial da lactação, de modo que esta entre na estação de monta com pelo menos ECC 2,5, que normalmente é considerado o valor "crítico" para o desempenho reprodutivo adequado de fêmeas de corte.

Mantivemos os animais no período pré-parto com escore de condição corporal 3,5 e 2,5 durante todo o período pós-parto, a fim de simular as condições de cria com forrageiras tropicais em nosso país. O peso à ovulação do grupo Controle foi maior que o do grupo Gordura, mesmo quando a gordura foi administrada no pré-parto sem causar interferência significativa na ingestão de matéria seca. Esta pode ter interferido no ganho de peso dos animais no pós-parto. Por se tratar de uma avaliação subjetiva, o pequeno número de animais nos faz acreditar que houve interferência da quantidade de animais no momento de avaliarmos pequenas mudanças no ECC. Quando a escassez de alimentos coincide com o pré e o pós-parto, as vacas podem entrar em balanço energético negativo, com diminuição das reservas energéticas e um impacto importante na atividade reprodutiva pós-parto. A troca de uma unidade de ECC, em uma escala de 1 a 9, correspondeu a 33 kg de peso corporal (LALMAN et al., 1997). A diferença por nós observada entre os grupos no período pós-parto foi de somente 12 kg durante todo o período, mas quando analisamos o peso corporal à ovulação notamos que os animais do grupo Controle apresentaram uma diferença de 50 kg comparados ao grupo Gordura, levando-se em consideração a escala de avaliação do ECC por nós utilizada (de 0 a 5) esta diferença representou quase uma unidade na escala que por nós pode não ter sido notada nos animais ovulados, podendo ser esta responsável pelo menor tempo à primeira ovulação observada no grupo.

O retorno a ciclicidade pós-parto, caracterizada pela atividade luteal normal, tem sido estudada por diversos autores. Esse retorno tem grande variação depende da nutrição pré e pós-parto, raça das fêmeas, ECC pré e pós-parto, genética, produção leiteira (habilidade materna) e quantidade de partos (primíparas "vesus" multíparas), merecendo maior destaque o ECC e a quantidade de partos. Normalmente, as vacas primíparas de leite mantidas em sistema de pastejo apresentam longos períodos de anestro pós-parto (WILTBANK, 1970) e menor taxa de prenhez ao término da estação reprodutiva

em comparação com vacas pluríparas (SÁ FILHO et al., 2012). Em vacas *Bos taurus*, a ação da reserva de energia sobre a atividade luteal difere de acordo com o local do experimento (VIZCARRA et al., 1998). Estes pesquisadores relataram que, em Louisiana (EUA), no final da estação de reprodução, a porcentagem de vacas com ECC ao parto de 4 (escala 1-9), que tinha atividade luteal foi de 58% em comparação com 89% das vacas com ECC 5 ou 6. Em contraste este efeito não foi observado em vacas na Carolina do Sul (EUA). Dentro do mesmo modelo, Selk et al. (1988) encontraram correlação entre ECC pré-parto e os dias no início da atividade luteal em vacas Hereford (EUA), mas, igualmente, não encontraram nenhuma ligação entre o pré-parto e ECC no início da estação de monta com a atividade luteal 85 dias após o parto. Além disso, o ECC ao parto não influenciou a porcentagem de vacas (Angus, Hereford e seus cruzamentos) com atividade luteal no início da estação de monta em os EUA (SPITZER et al., 1995). Este intervalo do parto ao início da atividade luteal, caiu mais em novilhas Angus e suas cruzas (EUA), que ganhou 1,8 unidades de ECC (escala 1-9) nos primeiros 90 dias pós-parto (LALMAN et al., 1997). De acordo com a Richards et al. (1989) nos EUA, vacas múltiparas Hereford não prenhes, sem restrição alimentar, a atividade lútea começou a ter prejuízos quando perderam peso cerca de $24,0 \pm 9,0\%$ e com $3,5 \pm 0,1$ de ECC (escala de 1 - 9). Alguns autores encontraram forte relação entre o ECC e o retorno à atividade cíclica. Lalman et al., (1997) obtiveram um intervalo do parto até a atividade cíclica de $121 \pm 6,0$ dias em primíparas com ECC 4 (escala de 1 a 9) o que foi relatado por Lents et al., (2008) em vacas múltiparas um intervalo de $93,1 \pm 6,5$ dias com ECC menor que 5,0.

Acreditamos que o intervalo do parto a primeira ovulação avaliado em nosso experimento é uma medida um pouco mais exata para se afirmar que o animal retornou a atividade cíclica no período pós-parto. Resultados observados por Sinclair et al., (2002) em vacas múltiparas mostraram que quando o ECC se eleva em 1 ponto na escala (de 0 a 5), o intervalo entre o parto e a primeira ovulação diminui de $57,1 \pm 4,5$ dias com ECC 2 para $47,8 \pm 4,5$ com ECC 3. Esperávamos que ministrando uma dieta de densidade energética maior no pré-parto esta poderia influenciar a resposta metabólica e reprodutiva no período pós-parto e com isso mesmo mantendo os animais em um escore

corporal de 2,5 (considerado crítico) e peso baixo, conseguiríamos diminuir o intervalo entre o parto e a ovulação, mas este efeito não foi observado.

O tamanho do maior folículo é importante no desempenho reprodutivo pós-parto. À partir do momento que este folículo vai se tornando maior, sua capacidade ovulatória vai sendo adquirida e melhora a sua resposta ao LH. Alguns trabalhos sugerem que a capacidade ovulatória dos folículos é adquirida com diâmetros inferiores (11,6 a 12,1 mm) em *Bos indicus* comparado aos *Bos taurus* (13,9 a 16,5 mm; BARUSELLI et al., 2007). Gimenes et al. (2008) aplicando 25 mg de LH em novilhas Nelore observaram mais de 80% de ovulação em animais que tinham folículos com diâmetro acima de 8,5mm .

O diâmetro do maior folículo foi aumentando conforme foi passando o pós-parto, sendo maior entre 75 e 90 dias que entre 15 e 30 dias pós-parto no grupo Controle ($9,17 \pm 1,52$ e $10,36 \pm 1,20$ mm) o grupo Gordura ($9,07 \pm 1,74$ e $10,18 \pm 1,93$ mm) apresentou somente uma tendência a esse crescimento. A ingestão de gordura no pré-parto pode ter interferido no diâmetro do maior folículo no pós-parto e esta diminuição retardou o retorno dos animais à ciclicidade. Estudos reportam que vacas zebuínas primíparas com crias apresentavam diâmetro do folículo dominante de $10,7 \pm 1,7$ mm, durante os primeiros 60 dias do período pós-parto (HENAO; GONZÁLEZ, 2008). Lents et al. (2008) observaram que vacas de ECC<5 (escala de 1 a 9) apresentaram menor folículo ($13,4 \pm 0,4$ mm) que vacas de ECC>5 ($15,4 \pm 0,4$ mm), diferença também encontrada por Vasconcelos et al. (2009) em vacas multíparas e primíparas sincronizadas com CIDR apresentando um ECC<2,75 obtiveram menor diâmetro do folículo dominante ($9,39 \pm 0,19$ mm) comparadas as que apresentaram ECC=3 ($9,88 \pm 0,14$ mm) e >3,25 ($10,27 \pm 0,26$ mm). A diferença encontrada no diâmetro do segundo maior folículo e no crescimento do maior folículo, que foram maiores no grupo Controle, nos leva a crer que esses animais apresentaram maior concentração de estradiol produzido por esses folículos, conseqüentemente uma sensibilização menos tardia do hipotálamo por este hormônio, e um retorno à ciclicidade mais cedo que a do grupo Gordura, porém não houve diferença na concentração de LH entre os grupos no decorrer do experimento. Os sais de Ca++ de fonte de gordura oferecidos neste experimento continham maiores quantidades de ácido linoleico, e

provavelmente, resultou numa absorção aumentada deste em comparação com o ácido linolênico (LOPES et al., 2009). O ácido linoleico pode ser dessaturado e alongado para ácido aracdônico, e servir como um precursor para a síntese de PGF2 α (YAQOOB; CALDER, 2007). Contudo, há indícios que o ácido linoleico pode reduzir a produção de PGF2 α inibindo a síntese das enzimas Δ 6-desaturase e ciclooxigenase (STAPLES et al., 1998, CHENG et al., 2001). No entanto, outros estudos demonstraram que a suplementação de vacas após o parto com ácido linoleico aumentou as concentrações circulantes de metabólitos da PGF2 α e reduziu a taxa de prenhez (FILLEEY et al., 2000; GRANT et al., 2005). Ao contrário deste ácido, o linolênico é um precursor dos ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico, que inibem a actividade da ciclo-oxigenase e, consequentemente a síntese de PGF2 α (YAQOOB E CALDER, 2007). Pesquisas anteriores demonstraram que a suplementação com ácido linolênico inibe a síntese de PGF2 α , atrasa a luteólise, e reduz as perdas de prenhez em bovinos (BURKE et al., 1997; THATCHER et al., 1997; MATTOS et al., 2000). Dependendo das quantidades e o tipo de ácido (ácidos graxos) que atinge os tecidos-alvo a luteólise pode ser estimulada ou inibida (THATCHER; STAPLES, 2000). Omega-3 e omega-6 (PUFAs) podem afetar uma série de fatores associados com a síntese e metabolismo de importantes hormônios reprodutivos, como os hormônios esteróides, progesterona (P4) e estradiol (E2) (GULLIVER et al., 2012). As dietas ricas em n-3 estão associadas com menores concentrações de colesterol no plasma (ROBINSON et al., 2002), o que pode conduzir à redução da síntese de hormônio esteróide, tal como o colesterol é um precursor para produção de P4 e E2 (STAPLES et al., 1998). No entanto, a inibição de PGF2 α pelo aumento de n-3 podem impedir a regressão do corpo lúteo (CL), resultando em liberação contínua de P4 (MCCRACKEN et al., 1972). Por outro lado, as dietas ricas em n-6 estão associados a maior produção de colesterol (ROBINSON et al., 2002), proteína esteroidogênica reguladora aguda (StAR) (WANG et al., 1999) e de PGE2 (MARSH, 1970), que pode estimular a produção de P4 (WATHES et al., 2007; LOPES et al., 2011). Podemos supor que a Gordura ministrada no pré-parto diminuiu a síntese de PGF2 α , aumentou a produção de P4, o que pode ter causado maior uma diminuição da sensibilidade do hipotálamo ao E2 no grupo tratado comparado ao Controle no período pós-parto.

A ingestão de gordura no pré-parto não interferiu no número de folículos entre os grupos de vacas no período pós-parto. A adição de gorduras na dieta de novilhas Nelore aumenta a quantidade de folículos pequenos nos ovários (NOGUEIRA et al., 2012). Um aumento no número de folículos foi verificado também pelos mesmos autores em relação aos folículos médios (5-8mm). O número de folículos médios (de 6 a 9mm) foi maior no grupo Controle comparado ao grupo Gordura dos 45 aos 60 dias pós-parto.

Foi verificado que a administração de gordura no pré-parto reduziu o diâmetro do segundo maior folículo no período pós-parto comparado aos animais que ingeriram a mesma quantidade de energia, mas sem ácidos graxos de cadeia longa (Figura 5). As dietas ricas em gorduras podem influenciar o desenvolvimento folicular no momento que estão sendo administradas, não há relatos de efeito posterior a interrupção da suplementação.

Dietas contendo grandes quantidades de AGCL, como os tratamentos com Megalac, aumentaram a gliconeogênese hepática, devido ao aumento na liberação de propionato no rúmen (SELNER; SCHULTZ, 1980; CHALUPA et al., 1986; KEELE et al., 1989). O aumento na gliconeogênese está associado com aumentos nas concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1, que influenciam a população de folículos médios (THOMAS; WILLIAMS, 1996).

Observamos que a suplementação com gordura no pré-parto não aumentou o número de folículos em número no pós-parto porém diminuiu o tamanho do segundo maior folículo nos ovários. A mudança metabólica nas concentrações de IGF-1 e insulina pode ter ocorrido no momento da suplementação no período pré-parto, mas isto não foi o suficiente para influenciar a população folicular.

A suplementação de ácidos graxos em dietas isoenergéticas, antes da estação de monta resultou no aumento do número de vacas ciclando no começo deste período (RAES et al., 2004; GUARDIEIRO et al., 2010). Esses mesmos autores também encontraram ausência de efeito em variáveis reprodutivas em novilhas Nelore suplementadas com gordura. A possível razão pela variação de resultados pode ter sido o fornecimento insuficiente de Megalac-E® (100 g/dia), apesar de esta ser a quantidade sugerida pelos fabricantes e utilizada em experimentos que obtiveram resultados positivos na

fertilidade. Essa mesma quantidade foi também utilizada por nós para não diminuir o consumo de MS. Saliencia-se que grande parte destes estudos foi realizada com bovinos leiteiros e seus resultados não são necessariamente aplicáveis aos animais de corte, devido às diferenças no consumo de matéria seca e produção de leite (FUNSTON, 2004).

Durante o início da lactação, as vacas de leite experimentam um período de balanço energético negativo acentuado, devido à elevada demanda de nutrientes e energia para a produção de leite e redução do consumo de matéria seca (HUTCHINSON et al., 2012). Por outro lado as fêmeas de corte sofrem um balanço energético negativo menos acentuado, já que tem menor aptidão leiteira e redução menos acentuada no consumo alimentar pós-parto. Nas condições de produção do Brasil, as fêmeas Nelore primíparas mantidas à pasto, em grande parte, apresentam uma forte queda no escore de condição corporal em função do balanço energético negativo associado a falta da qualidade e quantidade de forragem no período pós-parto que corresponde ao período de seca. Por este motivo optamos em manter os animais com escore de condição corporal médio de 2,5, e provavelmente não observamos efeito positivo da gordura oferecida no pré-parto na redução do tempo para a primeira ovulação no período pós-parto dessas fêmeas mantidas com escore corporal baixo.

Normalmente, o pico da produção de leite para vacas de corte *Bos taurus* ou *Bos indicus* é alcançado entre 8,8 a 11,1 semanas de lactação (JENKINS; FERRELL, 1992; OLIVEIRA et al., 2007), e vacas primíparas tendem a atingir o pico mais tarde do que vacas multíparas. No entanto, essa resposta não tem sido consistente em vacas Nelore (MENEGETTI et al., 2009). Meneghetti et al. (2009) não relataram diferenças na fertilidade de vacas primíparas e pluríparas da raça Nelore. Isso pode ser particularmente importante em vacas primíparas em condições de pastejo, não só porque elas têm que manter a produção de leite para o aleitamento, mas também por apresentarem maiores necessidades nutricionais para suporte de seu crescimento (SÁ FILHO et al., 2012). A suplementação pré-parto com gordura ou milho não interferiu no peso das bezerras ao nascimento e após o parto até os 120 dias. Trabalhos recentes têm demonstrado que a suplementação de vacas adultas durante os últimos 90 dias de gestação, melhora a capacidade

de sobrevivência do bezerro e peso na desmama, maior rendimento e retorno econômico no desmame (BOHNERT et al, 2010; STALKER et al, 2006). Por se tratarem de dietas isocalóricas ministradas no pré-parto, essa igualdade era esperada. Mesmo com o grupo Controle apresentando maior ganho de peso diário nos primeiros 30 dias pós-parto, essa diferença não persistiu durante o restante do período e não apareceu no peso vivo médio entre os grupos. A dieta não interferiu na produção de leite entre os grupos, não houve diferença no ganho de peso por mamada entre os grupos, quando foram realizadas as mamadas controladas (aos 20, 46, 81 e 108 dias pós-parto).

20 CONCLUSÃO

A gordura protegida na dieta no terço final da gestação de novilhas Nelore primíparas alterou a ciclicidade, sem modificar a concentração de LH, diminuindo a quantidade de folículos secundários e aumentando o tempo para a ovulação em 37 dias no pós-parto em animais com escore corporal 2,5.

Animais tratados com gordura no pré-parto apresentaram menor ganho médio diário de peso no final do pós-parto (0,12kg/dia aos 119 dias).

21 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que a suplementação de gordura piorou o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas primíparas de corte por causa do aumento da oferta de ácido linoleico e ácido linolênico, ou de ambos no período pré-parto, nas condições que foram realizadas o experimento.

Consequentemente, mais pesquisas são necessárias para determinar a quantidade, o período de fornecimento e proporção de ácido linoleico e linolênico na dieta serão necessários para efetivamente beneficiar a função reprodutiva em fêmeas de corte.

REFERENCIAS

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

AMBROSE, D.J.; KASTELIC, J.P.; CORBETT, R.; PITNEY, P.A.; PETIT, H.V.; SMALL, J.A.; ZALKOVIC, P. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3066-3074, 2006.

ANDERSON, L. H.; McDOWELL, C. M.; DAY, M. L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 1025-1031, 1996.

ARMSTRONG, D. G.; MCEVOY, T. G.; BAXTER, G.; ROBINSON, J. J.; HOGG, C. O.; WOAD, K. J.; WEBB, R. Effects of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology Reproduction**, v. 64, p.1 624-1632, 2001.

ARMSTRONG, D. G.; GONG, J. G.; GARDNER, J. O. Steroidogenesis in bovine granulosa cells: the effect of short-term changes in dietary intake. **Reproduction**, v. 123, p. 371-378, 2002.

AUSTGEN, L.; BOWEN, R. A.; ROUGE, M.. Pathophysiology of the endocrine system. 2003. Available:
<<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/index.html>>. Accessed Nov. 21. 2005.

BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. Ciclo ovariano. In:____. **Reprodução em bovinos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2006. p. 38-52.

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.

BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.205-211, 2007.

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.

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 Endocrinology**. v.165, p. 625-637, 2000.

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

BOHNERT, D. W., MILLS, R. R. STALKER, L. A. NYMAN, A.; FALCK, S. J. Late gestation supplementation of beef cows: effects on cow and calf performance. **Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.** v.61; p.255-258, 2010.

BOSSIS, I.; WETTERMANN, R. P.; WELTY, S. D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L. J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology Reproduction**. v. 62, p.1436-1444, 1999.

BRAGANÇA, J. F. M.; GONÇALVES, P. B. D.; BASTOS, G. M.; NEVES, J. P.; OLIVEIRA, J. F. C.; SIQUEIRA, L. C.; BORGES, L. F. K.; POMBO, R. D. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28. n. 2, p. 73-77, 2004.

BRIDGES, P. J.; LEWIS, P. E.; WAGNER, W. R.; INSKEEP, E. K. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 52, p. 573-583, 1999.

BROKAW, L.; HESS, B. M.; RULE, D. C. Supplemental soybean oil or corn for beef heifers grazing Summer pasture: effects on forage intake, ruminal fermentation, and site and extent of digestion. **Journal of Animal Science**. v. 79, p. 2704-2712, 2001.

BURKE, J. M.; STAPLES, C. R.; RISCO, C. A.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Effects of feeding a ruminant grade Menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**. V.80; p.3386–3398, 1997.

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Universidade Paranaense**. v. 10, n. 1, p. 59-67, 2007.

CARPENTER, B. B.; SPROTT, L. R. Determining pregnancy in cattle. AgriLIFE Extension, Texas A&M System. B-1077:1-18, 2008..

CERRI, R.L.A.; JUCHEM, S.O.; CHEBEL, R.C.; RUTIGLIANO, H.; BRUNO, R.G.S.; GALVÃO, K.N.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E.P. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and

embryo quality in highproducing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1520-1531, 2009.

CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; AONO, F. H. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v. 74, p. 903-911, 2010.

CHILDS, S.; LYNCH, C.O.; HENNESSY, A.A.; STANTON, C.; WATHES, D.C.; SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G.; KENNY, D.A. Effect of dietary enrichment with either n-3 or n-6 fatty acids on systemic metabolite and hormone concentration and ovarian function in heifers. **Animal**, v.2, p.883-893, 2008b.

CHILLIARD Y.; BOCQUIER F.; DELAVAUD C.; GUERRE-MILLO M.; BONNET M.; MARTIN P.; FAULCONNIER Y.; FERLAY, A. Leptin in ruminants: effects of species, breeds, adiposity, photoperiod, beta-agonists and nutritional status. *Proceedings of the 60th Cornell Nutrition Conference*, **60** 65–74, 1998.

CHENG, Z.; ROBINSON, R. S.; PUSHPAKUMARA, P. G. A.; MANSBRIDGE, R. J.; WATHES, D. C. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. **Journal of Endocrinology**. V.171;p.463–473, 2001.

COOKE, R. F.; ARTHINGTON, D. Plasma progesterone concentrations determined by commercial radioimmunoassay kit as puberty criteria for Brahman-crossbred heifers. **Livestock Science**. V.123; p.101–105. 2009.

COOKE, R. F.; ARHTINGTON, J. D.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; LAMB, G. C.. Effects of supplement type on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred females. **Journal of Animal Science**.v. 2006, p. 684, 2007.

COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; MORIEL, P.; HESS, B. W.; MILLS, R. R. Degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle, Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage. **Journal of Animal Science**.v. 89, p. 3677-3689, 2011.

COSTA, A. N. L. **Sincronização do estro e da ovulação em novilhas girolandas**: comparação entre dois protocolos hormonais “CIDR-B” e “OVSYNCH”. 2006. 65 p. (Dissertação em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

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

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

DELAVAUD, C.; BOCQUIER, F.; CHILLIARD, Y.; KEISLER, D.H.; GERTLER, A.; KANN, G. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. **Journal Endocrinology**. v.165, p.519-526, 2000.

DIAZ-TORGA, G.S.; MEIJA, M.E.; GONZÁLEZ-IGLESIAS, A.; FORMIA, N.; BECÚ-VILLALOBOS, 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.

D'OCCHIO, M. J.; GIFFORD, D. R.; HOSKINSON, R. M.; WEATHERLY, T.; SETCHELL, B. P. Gonadotropin secretion and ovarian responses in prepubertal heifers actively immunized against androstenedione and oestradiol-17b. **Journal Reproduction and Fertility**. v. 83, p.159, 1988.

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 Endocrinology**. v.166, p.519-528, 2000.

FERREL, C.L. Nutritional influences on reproduction. In P.T. Cupps. **"Reproduction in Domestic Animals"**. 4th Edition. Academic Press, Inc. pp:577-603.1991.

FILLEY, S. J.; TURNER, H. A.; STORMSHAK, F. Plasma fatty acids, prostaglandin F2 alpha metabolite, and reproductive response in postpartum heifers fed rumen bypass fat. **Journal of Animal Science**, v. 78; p.139–144, 2000.

FRIEDMAN, G.C.; HALAAS, J.L. Leptin and the regulation of the body weight in mammals. **Nature**, v.395, p.763-770. 1998.

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

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**. Raven Press, New York, 1988. p.1739-1762.

FUNSTON, R. N. Fat supplementation and reproduction in beef females, **Journal of Animal Science**, v. 82, p.154-161, 2004.

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.

GARCIA, M. R.; AMSTALDEN, M.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; WILLIAM, S. G. L. Age at puberty, total fat and conjugated linoleic acid content of carcass, and circulating metabolic hormones in beef heifers fed a diet high in linoleic acid beginning at four months of age. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 261-268, 2003.

GASSER, C. L.; BEHLKE, E. J.; GRUM AND, D. E.; DAY, M. L. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 3118–3122, 2006a.

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 hormone¹. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2050–2056, 2006b.

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

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

GRANT, M. H. J.; ALEXANDER, B. M.; HESS, B. W.; BOTTGGER, J. D.; HIXON, D. L.; VAN KIRK, E. A.; NETT, T. M.; MOSS, G. E. Dietary supplementation with safflower seeds differing in fatty acid composition differentially influences serum concentrations of prostaglandin F metabolite in postpartum beef cows. **Reproduction Nutrition Development**. V.45; p.721–727, 2005.

GUARDIEIRO, M.M. **Viabilidade pós criopreservação de embriões de novilhas Nelore suplementadas com gordura protegida ruminal**. 2009. 123f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

GUARDIEIRO, M. M.; BASTOS, M. R.; MOURÃO, G. B.; CARRIJO, L. H. D.; MELO, E. O.; RUMPF, R.; SARTORI, R. Função ovariana de novilhas Nelore alimentadas com dieta suplementada com gordura protegida ruminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 45, n. 4, p. 408-414, 2010.

GUTIERREZ, C. G.; OLDHAM, J.; BRAMLEY, T. A.; GONG, J. G.; CAMPBELL, B. K.; WEBB, R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1876-1884, 1997.

GULLIVER C.E.; FRIEND, M.A.; KING, B.J.; CLAYTON, E.H. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. **Animal Reproduction Science**. v.131, p. 9-22, 2012.

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

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.

HENAO, G.; GONZÁLES, V. Relación de la variación del peso vivo y de la condición corporal con la dinámica folicular posparto en vacas Cebú primerizas. **Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín**, v.61, n.1, p.4394-4399, 2008.

HESS, B.W., D.C. RULE AND G.E.MOSS. *High fat supplements for reproducing beef cows: Have we discovered the magic bullet?* In: **PROC,PACIFIC NORTHWEST ANIMAL NUTRITION CONFERENCE.**, 2003, . Vancouver, British Columbia, 2003. p. 59–83.

HUTCHINSON, I. A.; HENNESSY, A. A.; WATERS, S. M.; DEWHURST, R. J.; EVANS, A. C. O.; LONERGAN, P.; BUTLER, S. T. Effect of supplementation with different fat sources on the mechanisms involved in reproductive performance in lactating dairy cattle. **Theriogenology**, v. 78, p. 12–27, 2012.

IPARDES. INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO SOCIAL. Grupo de Estudos de Políticas Agroindustriais, GEPAI/UFSCAR. Instituto Brasileiro da Qualidade e Produtividade no Paraná/IBPQ. **Análise da competitividade da cadeia agroindustrial da carne bovina no estado do Paraná**. Curitiba: IPARDES, 2002. 255 p.

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

JENKINS, T. G.; FERRELL, C. L. Lactation characteristics of nine breeds of cattle fed various quantities of dietary energy. **Journal of Animal Science**. v.70, p.1652-1660, 1992.

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.

KEELE, J. W.; ROFFLER, R. E.; BEYERS, K. Z. Ruminant metabolism in nonlactating cows fed whole cottonseed or extruded soybeans. **Journal Animal Science**, v. 67, p. 1612-1619, 1989.

KEISLER, D. H.; LUCY, M. C. Perception and interpretation of the effects of undernutrition on reproduction. **Journal Animal Science**, v. 74, p.1-17, 1996. Supplement, 3.

KUNKLE, W. E.; SAND, R. S. Effect of body condition score on rebreeding. University of Florida IFAS Extension. AS51:1-8. 2003.

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

LALMAN, D.L.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, J.E.; SCHOLLJEGERDES, E.J.; MALLET, D.M. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2003–2008, 1997.

LENTS, C.A.; WHITE, F.J.; CICCIOLO, N.H.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J.; LALMAN, D.L. Effects of body condition score at parturition and postpartum protein supplementation on estrous behavior and size of the dominant follicle in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.86, p.2549-2556, 2008.

LAMMOGLIA, M. A.; BELLOWES, R. A.; GRINGS, E. E.; BERGMAN, J. W. Effects of prepartum supplementary fat and muscle hypertrophy genotype on cold tolerance in newborn calves. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2227–2233, 1999.

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

LOPES, C. N.; SCARPA, A. B.; CAPPELLOZZA, B. I.; COOKE, R. F.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. **Journal of Animal Science**, v.87; p.3935–3943, 2009.

MACIEL, M.N.; ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M.; KEISLER, D.H.; NEVES, J.; WILLIAMS, G.L. Leptin prevents fasting-mediated reductions in pulsatile secretion of luteinizing hormone and enhances its GnRH-mediated release in peripubertal heifers. **Biology Reproduction**. v.70, p.229–235, 2004.

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

MAQUIVAR, M.G. **Nutritional regulation of precocious puberty in heifers** 2011. 182f. Graduate Program in Animal Sciences, Tesis (Doutorado) - Ohio State University, Columbus, Ohio, EUA, 2011.

MARSH, J.M., The stimulatory effect of prostaglandin E2 on adenyl cyclase in the bovine corpus luteum. **FEBS Lett.** V.7; p. 283–286, 1970.

MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Reviews of Reproduction**, v.5, p.38–45, 2000.

MCCRACKEN, J.A.; CARLSON, J.C.; GLEW, M.E.; GODING, J.R.; BAIRD, D.T.; GREEN, K.; SAMUELSSON, B. Prostaglandin F2_α identified as a luteolytic hormone in sheep. **Nature New Biology**. V.238; p. 129–134, 1972.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**. v.72, p.179-189, 2009.

MENEGHETTI, M.; VASCONCELOS, J. L. M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.60, p.786-793, 2008.

MONTEIRO, F.M. **Puberdade em novilhas Nelore provenientes de duas linhas de seleção para peso**. 2011. 70 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

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.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of beef cattle**. 7. ed. Washington: National Academic Press, 1996. p. 242.

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

NOGUEIRA, E. **Efeitos da suplementação energética e lipídica no perfil metabólico, desenvolvimento folicular e produção in vitro de embriões em novilhas da raça nelore (*Bos taurus indicus*)**. 2008. 87 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

NOGUEIRA, É.; SILVA, A. S.; AMARAL, T. B.; ITAVO, L. C. V.; DIAS, A. M.; MINGOTI, G. Z. Follicular dynamics and oocyte production in young Nelore heifers with energetic supplementation. **Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science** 2012, *In press*.

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, R. L.; BARBOSA, M. A. A. F.; LADEIRA, M. M.; DA SILVA, M. M. P.; ZIVIANI A. C. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria, In: II SIMBOI – SIMPÓSIO SOBRE DESAFIOS E NOVAS TECNOLOGIAS NA BOVINOCULTURA DE CORTE, 2006, Brasília-DF, 2006.

OLIVEIRA, V. C. D. Produção de leite e desempenho dos bezerros de vacas Nelore e mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36; p.2074-2081, 2007.

OGG, G.; SOUZA, C. J. H.; JAUME, C. M.; MORAES, J. C. F. Utilidade do benzoato de estradiol após suplementação com progestágeno na sincronização de cios de novilhas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 41-46, 2004.

OWENS, F.N., P. DUBESKI, AND C.F. HANSON. Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 3138, 1993.

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

PESSUTI, O.; MEZZADRI, F. P. Atualidade e perspectivas da pecuária paranaense, In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004. Londrina, **Anais...** Londrina, 2004. p. 21-27.

QUIN, J. D. The insulin-like growth factors. **Quarterly Journal Medicine**, v. 298, p. 81-90, 1992.

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.

RAES, K.; DE SMET, S.; DEMEYER, D. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 113, p. 199-221, 2004.

RASBY, R. J.; DAY, M. L.; JOHNSON, S. K.; KINDER, J. E.; LYNCH, J. M.; SHORT, R. E.; WETTEMANN, R. P.; HAFS, H. D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing

device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, p. 55-63, 1998.

RAUSCH, M. I.; TRIPP, M. W.; GOVONI, K. E.; ZANG, W.; WEBER, W. J.; CROOKER, B. A.; HOAGLAND, T. A.; ZINN, S. A. The influence of level of feeding on growth and serum insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor-binding proteins in growing beef cattle supplied with somatotropin. **Journal of Animal Science**. v. 80, p. 94-100, 2002.

RICHARDS, M.W.; WETTEMANN, R.P.; SCHOENEMANN, H.M. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. **Journal of Animal Science**, v.67, p.1520-1526, 1989.

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.

RHODES, F. M.; ENTWISTLE, K. W.; KINDER, J. E. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers. **Biology and Reproduction**, v. 55, p. 1437-1443, 1996.

RHODES, R. C.; McCARTOR, M. M.; RANDEL, R. D. Effect of feeding protein-protected lipid upon growth and reproductive development of yearling heifers. **Journal of Animal Science**. v. 46, p. 769-777, 1978.

ROBERTS, C.A.; MCCUTCHEON, S.N.; BLAIR, H.T. Developmental patterns of plasma insulin-like growth factor-I concentrations in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**. v.4, p.457-463, 1990.

ROBINSON, R.S.; PUSHPAKUMARA, P.G.; CHENG, Z.; PETERS, A.R.; ABAYASEKARA, D.R.; WATHES, D.C. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. **Reproduction** v.124; p.119–131, 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.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Timed artificial insemination earlier during the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology** 2012, *In press*.

SANTOS, J.E.P.; CERRI, R.L.A.; SARTORI, R. Nutritional management of the donor cow. **Theriogenology**, v.69, p.88-97, 2008.

SANTOS, J. E. P.; SÁ FILHO, M. F. 2006. Nutrição e reprodução em bovinos. In: 2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina. p 30-54.

SANTOS, J. E. P., AND AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. **Arq. Fac. Vet. UFRGS** 26.1 (1998): 19-89.

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.

SELNER, D. R.; SCHULTZ, L. H. Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows. **Journal Dairy Science**. v. 63, p. 1235-1241, 1980.

SELK, G.E.; WETTEMANN, R.P.; LUSBY, K.S.; OLTJEN, J.W.; MOBLEY, S.L.; RASBY, R.J.; GARMENDIA, J.C. Relationships among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. **Journal of Animal Science**, v.66, p.3153-3159, 1988.

SHORT, R. E., R. A. BELLOWS, R. B. STAIGMILLER, J. G. BERARDINELLI, AND E. E. CUSTER. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.68; p.799-816, 1990.

SINCLAIR, K. D.; MOLLE, G.; REVILLA, R.; ROCHE, J. F.; QUINTANS, G.; MARONGIU, L.; SANZ, A.; MACKEY, D. R.; DISKIN, M. G. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows. **Animal Science**, v. 75:115-126, 2002.

SOUZA, E. M.; MILAGRES, J. C.; SILVA, M. A.; R. A. J., AND C. 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.

SPITZER, J. C.; NISWENDER, G. D.; SEIDEL, G. E.; WILTBANK, J. N. Fertilization and blood levels of progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 1071-1077, 1978.

STALKER, L. A.; ADAMS, D. C.; KLOPFENSTEIN, T. J.; FUEZ, D. M.; FUNSTON, R. N. Effects of pre- and postpartum nutrition on reproduction in

spring calving cows and calf feedlot performance. **Journal of Animal Science**, v. 84; p.2582-2589, 2006.

STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.856–871, 1998.

TORRES, L. F. T. 1996. Inseminação artificial em rebanhos comerciais de gado de corte. In: A. M. Peixoto, Moura; F. V.P.; (eds.) 4º Simpósio Sobre Pecuária de Corte: Produção do Novilho de Corte.. p 129-159, FEALQ, Piracicaba, SP.

THALLMAN, R.M.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; KOCH, R.M. Germplasm evaluation in beef cattle – Cycle IV: Postweaning growth and puberty of heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p.2605-2659, 1999.

THATCHER, W. W.; BINELLI, M.; BURKE, J.; STAPLES, C. R.; AMBROSE, J. D.; COELHO, S. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. **Theriogenology**. v. 47; p. 131–140, 1997.

THATCHER, W. W.; STAPLES, C. R. Effects of dietary fat supplementation on reproduction in lactating dairy cows. **Adv.Dairy Technology**. V.12; p.213–232, 2000.

THATCHER, W. W.; MOREIRA, F. A.; SANTOS, J. E. P.; MATTOS, R. C.; LOPES, F. L.; PANCARCI, S. M.; RISCO, C. A. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v. 55, p. 75-89, 2001.

THOMAS, M. G.; WILLIAMS, G. L. Metabolic hormone secretion and FSH induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated or polyunsaturated fatty acids. **Theriogenology**, v. 45, p. 451-458, 1996.

UOL, Economia. **Número de cabeças de gado volta a crescer no Brasil**. Disponível

em: < <http://economia.uol.com.br/ultimas-noticias/efe/2009/11/19/numero-de-cabecas-de-gado-volta-a-crescer-no-brasil.jhtm>>. **Acesso em: 18 NOV. 2009**.

YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Fatty acids and immune function: New insights into mechanisms. **Br. J. Nutr.** 98(Suppl.1):S41–S45. 2007

VASCONCELOS, J.L.M.; SÁ FILHO, O.G.; PEREZ, G.C.; SILVA, A.T. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus x Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v.111, p.302-311, 2009.

VIZCARRA, J.A.; WETTEMANN, R.P.; SPITZER, J.C.; MORRISON, D.G. Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v.76, p.927-936, 1998.

WANG, X.; REINHART, A.; WELSH, L.; MROTECK, J.; STOCCO, D. Arachidonic acid regulation of steroidogenic acute regulatory (StAR) protein gene expression and steroid hormone production. **FASEB J.** v.13; A556, 1999.

WATHES, D.C.; ABAYASEKARA, D.R.E.; AITKEN, R.J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology. Reproduction.** V.77; p.190–201.2007.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P. C.; GONG, J. G.; ARMSTRONG, D. G. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal Science.** v. 82, p. 63-74, 2004.

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

WHITNEY, M. B.; HESS, B. W.; BURGWALD-BALSTAD, L. A.; SAYER, J. L.; TSOPITO, C. M.; TALBOTT, C. T.; HALFORD, D. M. Effects of supplemental soybean oil level on in vitro digestion and performance of prepubertal beef heifers. **Journal of Animal Science.** v. 78, p. 504-514, 2000.

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

ZIEBA, DA, AMSTALDEN, M, MORTON, S, GALLINO, JL, EDWARDS, JF, HARMS, PG, WILLIAMS, GL. Effects of leptin on basal and GHRH-stimulated GH secretion from the bovine adenohypophysis are dependent upon nutritional status. **Journal Endocrinology.** v. 178, p. 83–89, 2003.