RAFAELA SANCHEZ DE LIMA

Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação em novilhas Nelore

Pirassununga

2017

RAFAELA SANCHEZ DE LIMA

**Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da
ovulação em novilhas Nelore**

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.

Departamento:

Reprodução Animal

Area de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira

De acordo: _____

Orientador

Pirassununga
2017

Obs: A versão original encontra-se 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 Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3578
FMVZ

Lima, Rafaela Sanchez de
Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação
em novilhas Nelore / Rafaela Sanchez de Lima. – 2017.
86 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, Pirassununga, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira.

1. Bos indicus. 2. Puberdade. 3. Ciclicidade. 4. J-Synch. 5. Prenhez. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação em Novilhas Nelore", protocolada sob o CEUA nº 9153080517, sob a responsabilidade de **Ed Hoffmann Madureira e equipe; Rafaela Sanchez de Lima** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 13/09/2017.

We certify that the proposal "Use of long-acting injectable progesterone for ovulation pre-synchronization in Nelore heifers", utilizing 680 Bovines (680 females), protocol number CEUA 9153080517, under the responsibility of **Ed Hoffmann Madureira and team; Rafaela Sanchez de Lima** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/13/2017.

Finalidade da Proposta: [Ensino](#)

Vigência da Proposta: de [10/2015](#) a [08/2017](#)

Área: [Reprodução Animal](#)

Origem: [Animais de proprietários](#)

Espécie: [Bovinos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [15 a 38 meses](#)

N: [680](#)

Linhagem: [Nelore](#)

Peso: [240 a 400 kg](#)

Resumo: O trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência do uso de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação e avaliar a eficiência na taxa de prenhez do protocolo J-Synch, curto período de implante de progesterona e longo pró-estro, em novilhas Nelore. Serão avaliados também os potenciais efeitos da idade e do desenvolvimento corporal dessas novilhas na sua eficiência reprodutiva. Para isso, serão utilizadas 600 novilhas Neloeres que serão mantidas em piquetes com pastagem de braquiária (*Brachiaria brizantha*), recebendo suplementação mineral e água ad libitum. Todas as novilhas passarão por uma avaliação das características de desenvolvimento corporal, no dia do início do protocolo de pré-sincronização da ovulação. Cada animal será pesado, receberá um ECC em uma escala de 1 (muito magro) a 5 (obesa). Serão coletados também os seguintes dados da morfometria corporal: altura de cernelha (AC), altura torácica (AT) e largura de garupa (LG). Na primeira avaliação ultrassonográfica as novilhas serão classificadas como: com Corpo Lúteo e sem Corpo Lúteo e, na sequência, divididas em dois grupos: novilhas do grupo controle, que não passarão pelo protocolo de pré-sincronização da ovulação e novilhas do grupo tratamento, que passarão pelo protocolo de pré-sincronização. Os animais do grupo tratamento receberão uma aplicação de progesterona IM de longa ação (150 mg -Sincrogest Injetável- Ouro Fino) no D-22 e após 10 dias (D-12) receberão 150 µg de D-cloprostenol e 1 mg de Benzoato de estradiol. Após o protocolo de pré-sincronização da ovulação, todos os animais serão submetidos ao mesmo protocolo de IATF J-Synch (D0= inserção do dispositivo intravaginal de liberação de 1,0 g progesterona, seguida pela aplicação de 2 mg BE IM e 75 µg D- cloprostenol; D6= retirada do implante seguido de nova aplicação de 150 µg D-cloprostenol IM; e D9= aplicação de 10,5 µg de acetato de buserelina) . Será feita uma única detecção de estro com 48 h após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona. Animais que aceitarem a monta serão considerados em estro e inseminados 12 h após. As demais novilhas que não apresentarem estro com 48 h serão inseminadas com 72 h após a retirada do implante (D9). Todas as inseminações serão feitas por técnicos experientes, utilizando-se sêmen de touros Neloeres de fertilidade provada. A gestação será diagnosticada após 30 dias da IATF. A novilha será considerada prenhe quando houver a presença de embrião-feto.

Local do experimento: Os animais serão mantidos em piquetes com pastagem de braquiária (*Brachiaria brizantha*), recebendo suplementação mineral e água ad libitum. Os animais serão levados ao curral apenas para os manejos, conforme delineamento.

São Paulo, 14 de setembro de 2017

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Comissão de Ética no Uso de Animais

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Claudia Madalena Cabrera Mori
Vice-Presidente

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Título: Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação em novilhas Nelore

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.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Agradecimentos

À Deus pelas oportunidades que surgiram em minha vida, por me guiar e me dar força para superar as dificuldades. Por estar sempre ao meu lado, principalmente durante as longas e cansativas viagens para realização do experimento.

À Universidade de São Paulo, principalmente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Departamento de Reprodução Animal.

À Capes pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ed Hoffmann pelos conhecimentos, pela paciência e pela confiança depositada em mim.

Ao meu esposo Victor por toda paciência e companheirismo. Por entender as dificuldades dessa fase, compreender minha ausência em alguns momentos e por me ajudar até em alguns manejos no curral, nos dias de desespero.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais Sandra e Fernando, meus irmãos Raquel e Renato, meu cunhado César, minha cunhada Fabiana, meu afilhado Emanuel, minha avó Nysséa, tia Cristina, tio Ribeiro, primos Júnior, Rodrigo e Fabrina. Obrigada por todo carinhoso e apoio!

Às fazendas onde os experimentos foram realizados: Fazenda Santa Helena, Fazenda Rancharia, Fazenda São Paulo, Fazenda Rio do Meio e Fazenda Shangrilá, e a todos os funcionários e proprietários que confiaram no meu trabalho e me ajudaram na realização desse trabalho. Sem vocês nada disso seria possível.

Às empresas Biogênese Bagó e Ouro Fino pelo fornecimento dos fármacos utilizados no experimento.

Aos colegas e estagiários que colaboraram na execução do projeto: Luis Henrique, Renée, Fabiane, Jéssica, Gisele, Thaís, Rosana, Alan e João Paulo.

À Empresa Matogrossense de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (EMPAER-MT), especialmente ao meu coordenador regional José Antônio.

Ao colega Kleber Menegon que me ajudou na elaboração do delineamento experimental e na discussão das dúvidas. Ao colega Tiago Martins que me ajudou na estatística do projeto, sempre muito prestativo e compreensivo. Aos demais colegas de departamento: Milton Maturana, Thiago Santin, Everton, Ângela, Milena, Mariana, Saara, Moana, Maressa.

Aos funcionários do VRA, em especial ao Cleyton, por toda sua competência e profissionalismo.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho e confiaram em mim!!!

Muito obrigada!

Ao meu esposo **Victor** por todo amor, carinho, respeito, compreensão e companheirismo durante esses anos.

Aos meus pais, **Fernando** e **Sandra**, por serem minha inspiração de vida, por me incentivarem e apoiarem durante essa caminhada.

À minha tia **Cristina**, tio **Ribeiro** e vó **Nysséa** pelo apoio.

Aos meus irmãos, **Raquel** e **Renato**, e meu afilhado **Emanuel** por compreenderem minha ausência durante esses últimos anos de estudo.

DEDICO

“A verdadeira coragem é ir atrás de seu sonho mesmo quando todos dizem que ele é impossível”

Cora Coralina

“A vida é um palco de teatro que não admite ensaios. Por isso, cante, chore, ria, antes que as cortinas se fechem e o espetáculo termine sem aplausos.”

Charles Chaplin

RESUMO

LIMA, R. S.: **Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação em novilhas Nelore** [Long-acting injectable progesterone for pre-synchronization of ovulation in Nelore heifers]. 2017. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficiência do protocolo de pré-sincronização da ovulação com progesterona (P4) injetável de longa ação em novilhas e a influência de seus efeitos sobre a taxa de prenhez do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) J-Synch adaptado. Novilhas Nelore ($n=638$; $21,5\pm 3,1$ meses e $295\pm 23,3$ kg) foram classificadas por ultrassonografia nos D-22 e D-12 em púberes (presença de corpo lúteo (CL) no D-22 e/ou D-12) ou pré-púberes (ausência de CL em ambas avaliações) e receberam 150 mg de P4 de longa ação I.M. no D-22 (tratadas) ou não (controle), perfazendo arranjo fatorial 2×2 . No D-12, apenas as novilhas tratadas, receberam 150 μ g de D-cloprostenol (PGF, I.M.) e 1 mg de benzoato de estradiol (BE, I.M.). No D0, avaliou-se a ciclicidade das novilhas e todas foram sincronizadas de acordo com protocolo J-Synch adaptado: D0: dispositivo intravaginal de P4 (1 g) + 2 mg BE e 75 μ g PGF; D6: remoção do dispositivo + 150 μ g PGF. Uma detecção de estro foi realizada 48 h após a retirada dos dispositivos e as detectadas em estro foram inseminadas 12 h depois, ou em tempo fixo no D9, com aplicação I.M. de 10,5 μ g acetato de buserelina. Exames ultrassonográficos foram realizados para mensurar o diâmetro do maior folículo e foi determinado um escore uterino (EU=1-6). O diagnóstico de gestação foi realizado no D39. Após 12 dias do tratamento (D0), menor proporção de novilhas, apresentando CL, foi verificada no grupo controle, quando comparada à de novilhas tratadas. Esta diferença foi mais acentuada nas pré-púberes (controle: 11,4% (23/199) vs. tratamento: 63,7% (136/215); $P<0,0001$), quando comparada às púberes (controle: 79,5% (92/113) vs. tratamento: 91,2% (102/111); $P=0,002$). A taxa de prenhez geral foi de 42,2% e tendeu a ser influenciada por tratamento ($P=0,07$). Novilhas do grupo controle apresentaram menor taxa de prenhez, de manifestação de estro 48 h após a retirada do dispositivo ($P=0,02$) e de ovulação antecipada ($P=0,007$), quando comparadas às novilhas tratadas (37,3% (119/312) vs. 44,7% (150/326); 15,9% (48/312) vs. 23,3% (52/224); 7,5% (23/258) vs.

15,4% (42/244), respectivamente). Para o diâmetro do folículo dominante, no momento da IATF (D9), houve interação entre status puberal e tratamento ($P<0,05$), sendo que as novilhas tratadas não diferiram entre si (pré-púberes: $11,1\pm0,13$ mm vs. púberes: $11,1\pm0,17$ mm; $P=0,99$). Para as novilhas do controle, as pré-púberes apresentaram menores diâmetros foliculares ($10,9\pm0,13$ mm), quando comparados aos das púberes ($11,5\pm0,17$ mm, $P=0,03$). A probabilidade de ciclicidade foi influenciada pelo diâmetro do folículo no D-22 e no D-12, para as novilhas pré-púberes tratadas ($P<0,05$). O uso da P4 aumentou o diâmetro folicular e o EU, no D-12, para as novilhas pré-púberes tratadas, quando comparadas às controles ($P<0,05$). A taxa de prenhez foi maior nas novilhas que manifestaram estro 48 h após a retirada do dispositivo e foram inseminadas com 60h (60h: 66,1% (85/124); IATF: 34,8% (185/515)), e nas novilhas que apresentaram CL no D0 (com CL: 51,5% (181/353); sem CL: 30,5% (89/286)). Conclui-se que o protocolo de pré-sincronização com P4 injetável aumenta a porcentagem de novilhas ciclando e tende a aumentar a taxa de prenhez apresentada pelo protocolo J-Synch adaptado.

Palavras-chave: *Bos indicus*. Puberdade. Ciclicidade. J-Synch. Prenhez

ABSTRACT

LIMA, R. S.: **Long-acting injectable progesterone for pre-synchronization of ovulation in Nelore heifers** [Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação em novilhas Nelore]. 2017. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

The objective of this study was to evaluate the effect of long-acting injectable progesterone (P4) pre-synchronization protocol and the influence of its effects on the pregnancy rate of the timed artificial insemination (TAI) J-Synch adapted protocol. Nelore heifers (n=638; 21.5 ± 3.1 months and 295 ± 23.3 kg) were classified by ultrasonography on D-22 and D-12 in pubertal (with corpus luteum (CL) on D-22 and/or D-12) or prepubertal (absence of CL in both evaluations), and received 150 mg of long-acting P4 I.M. on D-22 (treatment) or not (control), making a factorial arrangement 2X2. On D-12, only heifers treated with P4 received 150 µg of D-cloprostenol (PGF, I.M.) and 1 mg of estradiol benzoate (EB, I.M.). On D0, presence of CL was evaluated and all heifers were synchronized according to the adapted J-Synch protocol: D0: intravaginal release P4 device (1 g) + 2 mg EB and 75 µg PGF; D6: removal of the P4 device + 150 µg PGF. Animals detected in estrus at 48 hours after device removal were inseminated 12 h after or at fixed time on D9, with application of 10,5 µg buserelin acetate I.M. The largest follicular diameter was evaluated by ultrasound and was determined a uterine score (US= 1-6). The pregnancy diagnostic was performed on D39. After 12 days of treatment (D0), lowest proportion of heifers presenting CL was verified in control group, when compared to treated heifers. This difference was more pronounced in the prepubertal (control: 11.4% (23/199) vs. treatment: 63.7% (136/215); $P < 0,0001$), when compared to pubertal (control: 79.5% (92/113) vs. treatment: 91.2% (102/111); $P = 0,002$). The pregnancy rate was 42.2% and tended to be influenced by treatment ($P = 0.07$). Control heifers had lower pregnancy rate, estrus manifestation 48 h after device remotion ($P = 0.02$) and early ovulation ($P = 0.007$), when compared to treated heifers (37.3% (119/312) vs. 44.7% (150/326); 15.9% (48/312) vs. 23.3% (52/224); 7.5% (23/258) vs. 15.4% (42/244), respectively). For diameter of the dominant follicle at TAI (D9) there was interaction between pubertal status and treatment ($P < 0,05$), and the two treated groups did not

differ (prepubertal: 11.1 ± 0.13 mm vs. pubertal: 11.1 ± 0.17 mm; $P=0.99$). For control heifers, follicular diameter was smaller for prepubertal (10.9 ± 0.13 mm) than for pubertal (11.5 ± 0.17 mm, $P = 0.03$). Probability of cyclicity was influenced by follicular diameter on D-22 and D-12, for treated prepubertal heifers ($P < 0.05$). Use of P4 increased the follicular diameter and US on D-12 for prepubertal heifers treated, when compared to controls ($P < 0.05$). Pregnancy rates was greater in heifers that showed estrus 48 h after the device was removed and were inseminated with 60h (60h: 66.1% (85/124); TAI: 34.8% (185/515)), and in heifers with CL on D0 (with CL: 51.5% (181/353); without CL: 30.5% (89/286)). In conclusion, pre-synchronization protocol with long-acting P4 increases the percentage of cyclic heifers and tends to increase the pregnancy rate after J-Synch adapted protocol.

Keywords: *Bos indicus*. Puberty. Cyclicity. J-Synch. Pregnancy.

LISTA DE ABREVIATURAS

α-MSH	Hormônio alfa melanócito estimulante
AC	Altura de cernelha
AT	Altura torácica
BE	Benzoato de estradiol
CL	Corpo lúteo
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
ECP	Cipionato de estradiol
ETR	Escore de trato reprodutivo
EU	Escore uterino
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
I.M.	Intramuscular
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF-I	Fator de crescimento semelhante à insulina- I
LG	Largura de garupa
LH	Hormônio luteinizante
MGA	Acetato de melangestrol
NPY	Neuropeptídeo Y
P4	Progesterona
PGF	Prostaglandina
POMC	Proopiomelanocortina
ROT	Receptores de ocitocina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Hipômetro utilizado para coleta dos dados de morfometria corporal.....	40
Figura 2-	Delineamento experimental de pré-sincronização com P4 injetável e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em novilhas da raça Nelore.	44
Figura 3-	Resposta ao protocolo de pré-sincronização da ovulação com P4 injetável (porcentagem de CL no D0) em novilhas Nelore pré-púberes e púberes	48
Figura 4-	Probabilidade de indução de puberdade em novilhas pré-púberes, da raça Nelore, tratadas com protocolo de pré-sincronização com progesterona injetável (n= 209), em função do diâmetro do folículo dominante no D-22.....	51
Figura 5-	Probabilidade de ciclicidade (presença de CL) no D0 em novilhas pré-púberes da raça Nelore, tratadas com protocolo de pré-sincronização com progesterona injetável (n=205), em função do diâmetro do maior folículo no D-12.....	53
Figura 6-	Efeito do diâmetro do maior folículo no D-12 e tratamento com protocolo de pré-sincronização com progesterona injetável, no escore uterino no D-12 em novilhas Nelore pré-púberes (n= 400).....	54
Figura 7-	Efeito da manifestação de estro, com 48 h após a retirada do dispositivo de P4, sobre a taxa de prenhez (%) de novilhas Nelore.....	57
Figura 8-	Efeito da ovulação antecipada (entre D6 e D9) sobre a taxa de prenhez (%) de novilhas Nelore.....	57
Figura 9-	Probabilidade de prenhez em função do diâmetro do folículo dominante no momento da IATF (D9) e status puberal, em novilhas da raça Nelore	60
Figura 10-	Probabilidade de prenhez em função do diâmetro do folículo dominante no D9 e presença de CL no D0, em novilhas da raça Nelore.	60
Figura 11-	Probabilidade de prenhez e taxa de prenhez em função do escore uterino (EU) no momento da retirada do dispositivo de progesterona (D6), em novilhas da raça Nelore.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Descrição do escore de trato reprodutivo em novilhas, baseado nas características de útero e ovário.....	24
Tabela 2-	Classificação das novilhas quanto ao status puberal, conforme a presença de corpo lúteo (CL), e distribuição dos grupos experimentais.....	41
Tabela 3-	Descrição dos escores uterinos.....	42
Tabela 4-	Características de desenvolvimento corporal e idade segundo status puberal de novilhas.....	47
Tabela 5-	Média±EPM do diâmetro do folículo dominante, manifestação de estro (%), com 48 h após a retirada do dispositivo de progesterona (D8), ovulação antecipada entre D6 e D9 (%) e taxa de prenhez (%), em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.....	50
Tabela 6-	Fatores que afetam a indução de puberdade em novilhas Nelore pré-púberes, tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4 injetável.....	51
Tabela 7-	Média±EPM do diâmetro do maior folículo nos D-22, D-12 e D0 em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.....	52
Tabela 8-	Média±EPM do escore uterino nos diferentes dias após a pré-sincronização (D-22, D-12 e D0), em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.....	55
Tabela 9-	Média±EPM do escore uterino nos diferentes dias após a pré-sincronização (D-22, D-12 e D0), em novilhas Nelore pré-púberes e púberes, que responderam ou não ao protocolo de pré-sincronização.....	56
Tabela 10-	Influência da presença de corpo lúteo (CL) no D0 sobre a taxa de prenhez, o diâmetro do folículo dominante no D9 e o escore uterino (EU) no D6 de novilhas Nelore.....	58
Tabela 11-	Influência da presença do corpo lúteo (CL) no D0 sobre a manifestação de estro, com 48h após a retirada do dispositivo de P4, em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.....	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	EFICIÊNCIA REPRODUTIVA.....	20
2.2	PUBERDADE	21
2.3	AVALIAÇÃO DO ESCORE DE TRATO REPRODUTIVO (ETR).....	24
2.4	FATORES QUE INFLUENCIAM O INÍCIO DA PUBERDADE	25
2.4.1	Idade	25
2.4.2	Peso	26
2.4.3	Características de desenvolvimento corporal.....	28
2.4.4	Genética	29
2.5	INDUÇÃO DE PUBERDADE EM NOVILHAS.....	30
2.6	EMPREGO DA IATF EM NOVILHAS	34
3	HIPÓTESE	37
4	OBJETIVOS	37
4.1	OBJETIVO GERAL.....	37
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
5.1	ANIMAIS.....	39
5.2	AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA	39
5.3	AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS	40
5.4	MANEJO REPRODUTIVO.....	42
5.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	44
6	RESULTADOS	47
6.1	MEDIDAS MORFOMÉTRICAS E PESO, SEGUNDO STATUS PUBERAL	47
6.2	RESPOSTA AO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO....	47
6.3	RESPOSTA AO PROTOCOLO DE IATF J-SYNCH ADAPTADO.....	48
6.4	FATORES QUE INFLUENCIAM A RESPOSTA AO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO.....	50
6.5	FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE PRENHEZ APÓS PROTOCOLO DE IATF J-SYNCH ADAPTADO.....	56
7	DISCUSSÃO	62
8	CONCLUSÃO	72
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72
	REFERÊNCIAS.....	73

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é dono do maior rebanho bovino comercial do mundo, com aproximadamente 219 milhões de cabeças (ABIEC, 2017) e ocupa o primeiro lugar no *ranking* mundial de produção de carne (ABIEC, 2017). Apesar disso, o Brasil apresenta uma taxa de desfrute bem abaixo se comparado aos dos outros principais países produtores de carne. Nos EUA, a taxa de desfrute anual do rebanho é de 38%; na Austrália 30,9% e no Brasil de apenas 19,2% (SCOT CONSULTORIA, 2012); o que demonstra a necessidade de melhorar a eficiência da produção brasileira.

Na pecuária de corte, a produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas, e um dos gargalos que inviabilizam o aumento na produção das fazendas brasileiras está relacionada à elevada idade ao primeiro estro. No Brasil, devido à grande porcentagem de animais *Bos indicus*, essa idade está ao redor dos 24-29 meses (ALENCAR *et al.*, 1987; SOUZA *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2001, 2002; NOGUEIRA, 2004), com idades ao primeiro parto que variam de 34 a 46 meses (SOUZA *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2001; MALHADO *et al.*, 2013).

Vários fatores podem afetar a idade à puberdade e os índices reprodutivos de novilhas em estação de monta. Esses fatores podem estar relacionados ao grupo genético (MARTIN *et al.*, 1992; ROCHA E LOBATO, 2002) e ao desenvolvimento corporal (DAHLEN *et al.*, 2003; ABUD, 2010), como idade (PEREIRA *et al.*, 2001, 2002), peso (AZAMBUJA, 2003; DAHLEN *et al.*, 2003; SANTOS E SÁ FILHO 2006) e desenvolvimento do trato reprodutivo (DAHLEN *et al.*, 2003; GUTIERREZ *et al.*, 2014). Por isso, conhecer o impacto desses fatores, sobre a fertilidade, pode ser determinante para o desenvolvimento de estratégias para aumentar os índices de prenhez, de novilhas Nelore, ao final da estação de monta.

A eficiência dos programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) nas novilhas é influenciada pela proporção de novilhas que já atingiram a puberdade ao início dos protocolos de sincronização (MARTINS *et al.*, 2015). Com base neste argumento, manejos alternativos têm sido propostos para antecipar a idade à puberdade de novilhas. Vários estudos têm demonstrado a eficiência da associação de progesterona (P4) à estrógenos para melhorar a taxa de manifestação de cio e os índices de prenhez em novilhas próximas à puberdade (RASBY *et al.*, 1998,

Introdução

WHISNANT E BURNS, 2002; SÁ FILHO *et al.*, 2011; CABRAL *et al.*, 2013; SÁ FILHO *et al.*, 2015).

Diversas fontes de P4 já foram testadas para indução de puberdade: administração de progestágenos no alimento (acetato de melangestrol- MGA), implantes subcutâneos com norgestomet e dispositivos intravaginais com liberação sustentada de P4 (GONZALEZ-PADILLA, NISWENDER e WILTBANK *et al.*, 1975; PATTERSON *et al.*, 1990; PATTERSON E CORAH, 1992; HALL *et al.*, 1997; IMWALLE, PATTERSON, SCHILLO, 1998; RASBY *et al.*, 1998). Entretanto, pouco se sabe sobre a eficiência da P4 de longa ação de forma injetável, que é uma estratégia para fazendas que não possuem o dispositivo de P4 previamente utilizado, além de ser mais barata e de fácil manejo. Atualmente, a indução de puberdade com P4 injetável de longa ação vem sendo testada pelo nosso grupo de pesquisa (LEMES, 2017) e apresentou taxa de ciclicidade semelhante (68,64%, 81/118) e taxa de prenhez superior (42,74%, 50/117) às apresentadas pelos animais tratados com dispositivos de terceiro uso (63,25%, 74/117 e 26,49%, 31/117, respectivamente).

Além dos protocolos de indução de puberdade, uma vasta quantidade de protocolos de IATF para novilhas tem sido testado (CARVALHO *et al.*, 2008; SÁ FILHO *et al.*, 2008; MANTOVANI *et al.*, 2010). Recentemente, um novo protocolo foi proposto por De la Mata *et al.* (2013 e 2014) e apresentaram boas taxas de prenhez, que variaram de 50 a 62%, em novilhas *Bos taurus* de corte, de 16 a 23 meses. O protocolo J-Synch apresenta um curto período de dispositivo de P4 e um pró-estro mais longo (D0: BE+dispositivo de P4; D6: PGF; D9: IATF+GnRH; DE LA MATA *et al.*, 2013). Contudo, ainda são escassas as informações sobre o desempenho reprodutivo de novilhas zebuínas submetidas ao protocolo J-Synch. A única publicação, com elevado n experimental, é um resumo de congresso, publicado em 2016 por Motta *et al.* no qual não foi observada diferença na taxa de prenhez de novilhas Nelore cíclicas inseminadas com o protocolo J-Synch (47,1%, 48/102) ou o protocolo convencional (48,6%, 53/109; D0: dispositivo de P4 com BE, D8: retirada do dispositivo de P4 associado à eCG, ECP e PGF, D10: IATF).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a eficiência do protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação e a influência de seus efeitos sobre a taxa de prenhez após protocolo J-Synch (adaptado por LIMA *et al.*, 2017; pela adição de PGF no D0), em novilhas Nelore.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

A eficiência reprodutiva é uma das características econômicas mais importantes em um rebanho. A seleção genética buscando redução da idade à puberdade contribui para o aumento na vida reprodutiva do animal e consequentemente a produção de um maior número de bezerros, com benefícios para toda a cadeia produtiva (CARDOSO e NOGUEIRA, 2007).

Em 1930, Withycombe *et al.* realizaram um estudo para avaliar as vantagens e as desvantagem de novilhas taurinas parirem aos 2 ou 3 anos de idade e tornam-se púberes dos 10 aos 15 meses, considerando que novilhas *Bos taurus taurus* são mais precoces que *Bos taurus indicus* (FERRELL, 1982). Para isso, novilhas Hereford foram submetidas a diversos programas nutricionais de inverno e foi feita a comparação, durante seis anos, das novilhas que pariram aos 2 ou aos 3 anos de idade. As novilhas que pariram aos 2 anos apresentaram taxas de parição mais baixas aos 3 e 4 anos (15% e 14% a menos, respectivamente) do que as novilhas que pariram pela primeira vez aos 3 anos, porém não houve diferenças a partir dessa idade. Essa discreta redução da taxa de parição, entretanto, não eliminou a vantagem da parição aos 2 anos de idade sobre a produtividade total. Aos 6,5 anos de idade, as novilhas que pariram pela primeira vez aos 2 anos haviam produzido, em média, 0,7 bezerros/vaca a mais do que as que pariram pela primeira vez aos 3 anos (WITHYCOMBE *et al.*, 1930). A redução da idade ao primeiro parto de 3 para 2 anos também pode aumentar o retorno econômico do sistema em 16% e aumentar de 0,5 a 0,8 bezerros por vaca durante sua vida produtiva (ELER *et al.*, 2010).

A redução da idade de parição aumenta a produtividade, antecipa a recuperação do investimento e o melhoramento genético aumenta a vida produtiva. Vários fatores, desde o nascimento, podem influenciar no desenvolvimento reprodutivo de novilhas. Portanto, decisões que envolvem suplementações alimentares, diferenças raciais ou seleção dentro da mesma raça, ganho de peso/peso ao desmame, ganho de peso/peso ao acasalamento e tratamentos hormonais para sincronização ou indução de estros assumem grande importância desde a fase de cria (NOGUEIRA, 2004).

2.2 PUBERDADE

A puberdade é definida como a aquisição da capacidade em se reproduzir. A puberdade, entretanto, não é um evento isolado, ela é a etapa final de um período de alterações fisiológicas e morfológicas que culminam com a capacidade de conceber e manter a gestação (revisado por SÁ FILHO *et al.*, 2008). Por outro lado, a maturidade sexual só vai ocorrer após o terceiro ciclo estral, no momento em que acontece a primeira ovulação com manifestação de estro, seguida pelo desenvolvimento de um corpo lúteo (CL) funcional (DEL VECCHIO *et al.*, 1992).

Del Vecchio *et al.* (1992), trabalhando com novilhas Holandesas, observaram elevada frequência de ciclos com duração anormal, principalmente durante o primeiro e segundo ciclo. Foi observada uma grande incidência de ciclos longos e curtos após o primeiro estro, e mais ciclos curtos após o segundo estro. Esses ciclos anormais resultam de estro sem posterior formação de CL, corpos lúteos de curta duração, “ovulação silenciosa” e baixa concentração de P4 na circulação antes do início do próximo estro (< 1 ng/ml).

O ciclo estral de curta duração é consequência de uma luteólise prematura do CL entre o 8º e 12º dia, devido à falta de uma pré-exposição a P4, responsável pela inibição dos receptores de ocitocina (ROT) no endométrio, os quais são necessários para a liberação de prostaglandina (PGF; WATHES E LAMMING, 1995). Dessa forma, o acasalamento logo após o primeiro estro não é recomendado, pois a fertilidade nessa fase é baixa (YAVAS E WALTON, 2000). Após o terceiro estro, entretanto, todas as novilhas apresentam ciclos de duração normal (18 a 24 dias), com concentração de P4 e estradiol circulantes superiores em relação ao primeiro estro (DEL VECCHIO *et al.*, 1992). Da mesma forma, novilhas acasaladas no terceiro estro apresentam maior taxa de prenhez do que as acasaladas no seu primeiro estro (78,0% vs. 57,0%) (BYERLEY *et al.*, 1987).

Nas novilhas pré-púberes, os folículos ovarianos secretam baixas concentrações de estradiol, que são suficientes para causar uma sensibilidade excessiva do hipotálamo ao estradiol, causando a supressão da secreção pulsátil de hormônio luteinizante (LH). Para demonstrar essa hipótese, Day *et al.* (1984) ovariectomizaram novilhas pré-púberes causando um aumento rápido de 5 a 7 vezes na média (de 1 para 6 ng/ml) e da frequência dos pulsos (de 1 pulso a cada 8 horas para 1 pulso por

Revisão de Literatura

hora) de secreção de LH desses animais. Por outro lado, quando novilhas ovariectomizadas receberam a administração exógena de estradiol 17 β , houve a supressão da liberação pulsátil de LH. Essa sensibilidade do hipotálamo ao estradiol pode ser controlada por neurônios localizados na área pré-óptica medial do hipotálamo (DOCKE *et al.*, 1984). Com isso, a puberdade das novilhas só é possível após a redução do *feedback* negativo exercido pelo estradiol na fase pré-púbere, que possibilitará um aumento na secreção de LH (DAY *et al.*, 1984; DAY *et al.*, 1987).

No período pré-puberal, aproximadamente três pulsos de LH ocorrem a cada 12 h, comparada a uma frequência de um pulso por hora de animais cíclicos (ANDERSON *et al.*, 1996). Os 50 dias que precedem a puberdade nas novilhas é denominado período peripuberdade e corresponde ao período no qual ocorre um rápido aumento no peso uterino (DAY *et al.*, 1987; ANDERSON *et al.*, 1996) e um aumento na liberação de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (YAVAS E WALTON, 2000). Próximo a puberdade, há um aumento no diâmetro máximo do folículo dominante e na concentração plasmática de estradiol (BERGFELD *et al.*, 1994; ANDERSON *et al.*, 1996), capaz de reduzir o *feedback* negativo exercido pelo estradiol através da diminuição na concentração de seus receptores no hipotálamo e/ou hipófise (DAY *et al.*, 1987).

Os mecanismos envolvidos com o início da puberdade não são mecanismos isolados, mas envolvem interações entre o sistema neural e endócrino. Alguns trabalhos já demonstraram a participação de neuromoduladores estimulatórios (aminoácidos excitatórios (glutamato, aspartato), noraepinefrina, noradrenalina e ácido aspártico) e inibitórios (neuropeptídeos hipotalâmicos Y (NPY), GABA, dopamina, opióides endógenos e endorfinas) no processo de maturação sexual (HONARAMOOZ *et al.*, 2000; RAWLINGS *et al.*, 2003; CARDOSO e NOGUEIRA, 2007).

Além disso, em 2002, Garcia *et al.* demonstraram a relação da leptina com a puberdade de novilhas. A leptina é uma proteína produzida pelos adipócitos. Com a aproximação da puberdade, ocorre aumento significativo tanto da leptina circulante, quanto da expressão do seu gene (GARCIA *et al.*, 2002). A ação da leptina exerce um efeito trans-sinapse através dos NPY e proopiomelanocortina (POMC). O aumento da expressão do POMC, resulta no aumento da produção de hormônio alfa melanócito estimulante (α -MSH), o qual estimula a saciedade (SALMAN *et al.*, 2007). O NPY,

Revisão de Literatura

entretanto, é um neuromodulador inibitório responsável por inibir a secreção de LH (revisado por WILLIAMS *et al.*, 2002).

Entre os neurotransmissores inibitórios, o GABA atua inibindo a liberação de LH, predominantemente através de receptores GABA_A. Em ratas ovariectomizadas, a infusão do GABA em regiões hipotalâmicas contendo neurônios de GnRH inibe a secreção pulsátil de LH (CARBONE *et al.*, 2002). Em ovelhas tratadas com estradiol, durante o anestro sazonal, a administração de bacoflen (antagonista GABA_B) sensibiliza a área pré-óptica hipotalâmica e aumenta a concentração de LH (SCOTT e CLARKE, 1993). De maneira semelhante, a administração de pimozide (antagonista de receptores D₂ da dopamina), durante o anestro sazonal em ovelhas ovariectomizadas, não aumentou a frequência pulsátil de secreção de LH. Porém, quando administrada em ovelhas ovariectomizadas e tratadas com estradiol, ocorreu o aumento na frequência pulsátil de LH, sugerindo que neurônios dopaminérgicos e o estradiol estejam envolvidos no processo de secreção de GnRH (MEYER e GOODMAN, 1985).

Os opióides endógenos também são conhecidos neurotransmissores inibitórios e sua presença pode inibir a secreção de LH, após o nascimento. Próximo à primeira ovulação, entretanto, há a diminuição progressiva desse efeito inibitório. Em novilhas, o efeito supressor dos opióides parece acontecer, em partes, através da inibição do sistema neuronal dopaminérgico e, a partir da 20ª semana de idade, o sistema α -adrenérgico pode aumentar a secreção de LH, determinando o momento da primeira ovulação (WOLFE *et al.*, 1992; HONARAMOOZ *et al.*, 2000).

Entre os neurotransmissores estimulatórios, os aminoácidos, como o glutamato, possuem uma importante função na secreção de gonadotrofinas, através de sua ação no sistema nervoso central (BRANN e MAHESH, 1995). O sistema adrenérgico também foi demonstrado estar relacionado à secreção de LH em ratas (OJEDA *et al.*, 1982). Embora, o tratamento com clonidina (agonista alfa-adrenérgico) em novilhas pré-púberes da raça Nelore tenha reduzido a concentração média de LH e o tempo necessário para o aparecimento do maior pico de LH aos 15 meses de idade e aumentado a área total e área do maior pico de secreção de LH aos 8 meses de idade (CARDOSO e NOGUEIRA, 2008).

2.3 AVALIAÇÃO DO ESCORE DE TRATO REPRODUTIVO (ETR)

Sabendo-se que a puberdade não é um evento isolado e que ela acontece de forma progressiva, alguns autores criaram avaliações de ETR com o objetivo de classificar o status puberal de novilhas e estimar seu potencial em tornarem-se prenhes, através da palpação por via transretal dos cornos uterinos, ovários e estruturas ovarianas (ANDERSON *et al.*, 1991). O escore do trato reprodutivo pode ser útil também na determinação do protocolo de sincronização de estros mais adequado a ser adotado (GUTIERREZ *et al.*, 2014).

Para essa avaliação, é utilizada uma escala de 1 a 5 pontos, conforme tabela apresentada abaixo:

Tabela 1. Descrição do escore de trato reprodutivo em novilhas, baseado nas características de útero e ovário

Escore de trato reprodutivo	Status puberal	Cornos uterinos	Tônus uterino	Estruturas ovarianas
1	Pré-púberes	< 20 mm	Sem tônus	Sem estruturas ovarianas palpáveis
2	Pré-púberes	Entre 20 e 25 mm	Sem tônus	Folículos menores 8mm
3	Peripúberes	Entre 20 a 25 mm	Leve tônus	Folículos de 8-10 mm
4	Púberes	≥ 30 mm	Tônus	Folículos > 10 mm
5	Púberes	≥ 30 mm	Tônus	CL palpável

Fonte: (ANDERSON *et al.*, 1991).

A porcentagem de animais cíclicos e a taxa de prenhez são influenciadas pela classificação do ETR. Novilhas com escores 4 e 5 apresentam maior ciclicidade e maiores taxas de prenhez. Para cada unidade de ETR aumentada, a porcentagem de prenhez, à inseminação artificial, aumenta 9,6% e a prenhez após o repasse com touro no final da estação de monta, 6,9%. Novilhas com ETR iguais ou inferiores a 3, responderam pouco à sincronização de estro e apresentam menor fertilidade quando inseminadas (DAHLEN *et al.*, 2003).

O ETR influencia tanto o número de novilhas de corte que se tornam prenhes durante a estação de monta, como o momento em que ela se torna prenhe. As novilhas com maior ETR tornaram-se prenhes antes na estação de monta em relação às novilhas com menor escore (GUTIERREZ *et al.*, 2014).

2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM O INÍCIO DA PUBERDADE

2.4.1 Idade

Um dos principais fatores envolvidos no início da puberdade é a idade. No Brasil, as novilhas apresentam idade avançada ao primeiro parto, sendo um dos principais fatores relacionados à baixa eficiência produtiva no país, por reduzir o retorno econômico da pecuária de corte (PEREIRA *et al.*, 2001, 2002). Com a elevada idade ao primeiro parto, ocorre uma menor produção de bezerros durante a vida produtiva da vaca (ELER *et al.*, 2010).

A idade ao primeiro parto é uma característica que pode ser utilizada como critério de seleção, por estar relacionada com a puberdade e ser uma característica de fácil obtenção, quando comparada com idade à puberdade. Além disso, não gera custos para o sistema. MacNeil *et al.* (1984) verificaram que a herdabilidade para idade à puberdade é relativamente alta (0,61), enquanto que a herdabilidade para idade ao primeiro parto, em novilhas Nelore, acasaladas aos 27 meses, é extremamente baixa (0,01; GRESSLER *et al.*, 2000).

Quando o acasalamento é feito mais cedo, como aos 14 meses, o coeficiente de herdabilidade para idade ao primeiro parto aumenta (0,18) e é bem superior ao obtido para novilhas acasaladas aos 26 meses (0,02). Silva *et al.* (2005) encontraram coeficientes de herdabilidade ainda superiores para novilhas Nelore acasaladas aos 16 meses (0,52). Possivelmente, fêmeas expostas mais velhas, precoces ou não, estão mais preparadas para a reprodução, o que dificultaria a detecção de diferenças genéticas entre elas. Já nas novilhas que são expostas mais cedo, a diferença genética fica mais evidente. Esses resultados demonstram a possibilidade da utilização da idade ao primeiro parto como critério de seleção em rebanhos em que

as novilhas entram na estação de monta em torno de 14 meses de idade (PEREIRA *et al.*, 2001, 2002).

Em estudo realizado nos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Goiás, Pereira *et al.* (2001, 2002) comprovaram a idade avançada ao primeiro parto de novilhas Nelore, criadas em sistema de pastejo extensivo, no Brasil. Esses autores demonstraram idade média ao primeiro parto ao redor de 34 meses de idade, correspondendo a uma idade à concepção em torno de 24- 25 meses, quando expostas à touro com 14 meses. Já as novilhas que foram expostas à touro com 26 meses, tiveram idade média ao primeiro parto mais alta (37 meses).

Da mesma forma, Alencar *et al.* (1987) relataram que a idade ao primeiro estro, de novilhas da raça Nelore, criados em sistema extensivo, no estado de São Paulo, foi de $25,7 \pm 0,5$ meses de idade. Restle *et al.* (1999) encontraram resultados ainda piores e demonstraram que apenas 25% das fêmeas apresentaram estro aos 24 meses de idade, em novilhas Nelore, sendo que aos 28 meses essa taxa aumentou para 70%.

2.4.2 Peso

Além da idade, os fatores peso e reserva corporal também são importantes, e podem influenciar o início da puberdade. Peso e idade são variáveis dependentes entre si. Novilhas acasaladas com menor idade, quando bem desenvolvidas, não apresentaram diferenças na taxa de prenhez, quando comparadas às novilhas acasaladas com maior idade. Entretanto, novilhas de menor idade necessitam de um maior peso ao início do acasalamento para alcançarem a mesma taxa de prenhez de novilhas mais velhas, indicando relações entre o peso e idade ao acasalamento sobre a taxa de prenhez (GOTTSCHAL *et al.*, 2005). Novilhas jovens tendem a apresentar menor desempenho reprodutivo quando não atingem peso e desenvolvimento corpóreo adequados (AZAMBUJA, 2003).

Santos e Sá Filho (2006) avaliaram o peso vivo, a condição corporal e a ciclicidade, de novilhas Nelore, com idades entre dois e três anos. A proporção de fêmeas pré-púberes apresentou uma relação quadrática com o escore de condição corporal (ECC) e com o peso vivo, sendo que o aumento da condição corporal ou do

Revisão de Literatura

peso vivo reduziu a proporção de novilhas em anestro. Em torno de 40% das novilhas apresentavam-se pré-púberes com 285 kg, sendo que essa taxa foi diminuindo conforme o peso das novilhas aumentou.

Além disso, já foi demonstrada a influência do ganho de peso até a desmama e pós-desmama sobre a idade à puberdade. Quanto maior a taxa de ganho de peso das novilhas, durante os períodos até a desmama e pós-desmame, antecipadamente as novilhas atingem a puberdade (BUSKIRK, FAULKNER, IRELAND 1995; SEMMELMANN *et al.*, 2001; AZAMBUJA, 2003) e melhores são suas taxas de prenhez (ROCHA E LOBATO, 2002).

Utilizando novilhas Nelore de 17/18 meses de idade, Semmelmann *et al.* (2001) avaliaram o ganho de peso e desempenho reprodutivo desses animais dos 7,5 meses até o acasalamento, sob diferentes sistemas de suplementação nutricional. Eles observaram que novilhas prenhes no final da estação de monta eram mais pesadas tanto no início quanto no fim da estação de monta, tiveram melhor ECC, maiores ganhos médios diários. A amplitude de peso vivo, no primeiro acasalamento das novilhas Nelore prenhes, foi de 227 a 336 kg, sendo que 70% dessas novilhas prenhes possuíam entre 265 e 336 kg.

Já foi demonstrado que a idade elevada ao primeiro parto está relacionada principalmente com a deficiência nutricional (YELICH *et al.*, 1996). Para entrar na puberdade é fundamental que a fêmea atinja um determinado grau de desenvolvimento corpóreo, que é consequência do seu ganho de peso (RESTLE *et al.*, 1999). Segundo Dahlen *et al.* (2003), para cada aumento de 45,4 kg no peso ao acasalamento, há um aumento de aproximadamente 10,2% nas taxas de prenhez após a inseminação e 12,4% após repasse pelo touro.

A restrição alimentar atrasa o início da puberdade por suprimir a frequência de pulsos de LH, necessária para o crescimento dos folículos ovarianos até o estágio pré-ovulatório (YELICH *et al.*, 1996). A restrição alimentar aguda também é suficiente para diminuir a expressão gênica e a concentração de leptina circulante, associadas a diminuição dos níveis séricos de insulina, fator de crescimento semelhante a insulina-I (IGF-I) e da frequência de pulsos de LH em novilhas pré-púberes (AMSTALDEN *et al.*, 2000). Em ovinos, sob restrição alimentar, foi confirmado que a secreção de hormônio do crescimento (GH) e LH é modulada pela leptina, o que sugere que este hormônio sinaliza o estado nutricional dos animais, para o posterior

Revisão de Literatura

estímulo dos mecanismos que controlam a função reprodutiva, por meio de fatores neuroendócrinos (NAGATANI *et al.*, 2000).

O tipo de alimentação também está diretamente relacionado à idade à puberdade e taxa de prenhez de novilhas. Novilhas pré-púberes de 8 meses (1/4 Angus, 1/4 Hereford, 1/4 Red Poll e 1/4 Pinzgauer), recebendo dietas com altas concentrações energéticas, entraram na puberdade mais novas e com maior peso corporal, quando comparadas às que receberam alimentação com baixa concentração energética, além de apresentarem maior diâmetro do folículo dominante e maior concentração circulante de estradiol (BERGFELD *et al.*, 1994). Além do maior diâmetro folicular, novilhas suplementadas com dietas com moderada-alta/alta densidade energética (ganho: 1000-1250 g/dia) apresentaram maior concentração plasmática de IGF-I do que novilhas suplementadas com dieta de baixa/moderada-baixa densidade energética (ganho: 500-750 g/dia; BARCELLOS *et al.*, 2014).

2.4.3 Características de desenvolvimento corporal

Estudos sobre avaliações de desenvolvimento corporal dos animais fazem uso, quase que exclusivamente, da característica peso. Trabalhos científicos envolvendo avaliações de pesos são comuns na literatura. Outras medidas, entretanto, que envolvem o desenvolvimento e a estrutura corporal são relevantes e merecem atenção (NORTHCUTT *et al.*, 1992; ABUD, 2010). Mensurações corporais morfométricas, como altura e comprimento, são relacionadas à puberdade dos animais, além de serem mais precisas na determinação do tamanho à maturidade, do que o peso. Esse pode sofrer flutuações periódicas, principalmente relacionadas à fatores nutricionais, enquanto as medidas corporais lineares são constantes (NORTHCUTT *et al.*, 1992).

Além disso, são sugeridos mecanismos compensatórios para o crescimento do esqueleto que não são vistos para o crescimento de massa muscular, visto que o peso corporal responde com mais sensibilidade às mudanças de concentração proteica na dieta do que o esqueleto (SHAMAY *et al.*, 2005). Foram observadas correlações positivas entre algumas medidas morfométricas e o peso no início da vida reprodutiva. Isso mostra a possibilidade do uso destes dados na seleção de animais de

Revisão de Literatura

desenvolvimento precoce, além de serem características de fácil obtenção e facilmente aplicável nas propriedades rurais (ABUD, 2010).

Avaliações subjetivas das características ligadas ao acúmulo de reservas corporais, através de julgamentos visuais mensurados por escores, também já foram descritos. Foram classificadas as características relacionadas à conformação, musculatura e precocidade (KOURY FILHO, 2009). Animais com alto escore para precocidade são aqueles que apresentam boa abertura torácica e boa profundidade de costelas (KOURY FILHO, 2009).

Para demonstrar a importância das características de desenvolvimento corporal, em relação ao estado nutricional dos animais e puberdade, Radcliff *et al.* (1997) demonstraram que uma dieta de alto ganho de peso reduz a idade à puberdade das novilhas, mas não afeta a altura de cernelha (AC) ou área pélvica à puberdade. Entretanto, quando esses animais são tratados com injeções de somatotropina houve um aumento no ganho de peso, AC à puberdade e área pélvica. A AC na puberdade de novilhas Nelores variou de 115 a 119 cm, e a área pélvica variou de 210 a 241 cm² (RADCLIFF *et al.*, 1997).

Mais recentemente, Abud (2010) avaliou novilhas Nelore quanto ao peso, ECC e morfometria corporal, a cada dois meses, dos 16 aos 32 meses de idade. Com relação às medidas morfométricas, observaram-se diferenças significativas na AC, altura do posterior, comprimento do corpo, comprimento da garupa, largura da cabeça, largura de garupa (LG), perímetro da rabada e perímetro torácico, sendo estas características maiores nas novilhas que ficaram prenhas no final da estação (ABUD, 2010). Além disso, maiores áreas pélvicas são relacionadas com melhores ETR e melhores taxas de prenhez (DAHLEN *et al.*, 2003).

2.4.4 Genética

Existem importantes diferenças na fisiologia e no comportamento reprodutivo entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, entre elas a idade à puberdade. Em novilhas taurinas a puberdade geralmente acontece entre 10- 15 meses e 270- 350 kg de peso corpóreo, com o parto estimado para 24- 26 meses de idade (FERRELL, 1982). Nos zebuínos, a puberdade acontece em idade mais avançada, ao redor dos

Revisão de Literatura

24-29 meses (ALENCAR *et al.*, 1987; SOUZA *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2001, 2002; NOGUEIRA, 2004), com idades ao primeiro parto que variam de 34 a 46 meses (SOUZA *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 2001; MALHADO *et al.*, 2013).

Novilhas de raças que apresentam maior porte quando adultas, apresentam-se à puberdade mais pesadas e mais velhas do que fêmeas de raças de menor porte. Além disso, raças que tiveram uma seleção para produção de leite tendem a pesar menos na puberdade do que aquelas selecionadas para produção de carne (MARTIN *et al.*, 1992).

Souza *et al.* (1995) demonstraram uma média de idade ao primeiro parto de 45,6 meses, em novilhas Gir. Segundo esses mesmos autores, existe um grande efeito de rebanho nessas taxas, principalmente devido às diferenças de manejo, alimentação, sanidade e técnicas reprodutivas específicas de cada rebanho, além das diferenças ambientais e genéticas.

Além disso, a relação do grau de sangue taurino x zebuínos também pode influenciar a entrada na puberdade. Novilhas cruzadas com maior grau de sangue zebuíno (5/8 Nelore- 3/8 Hereford) apresentam menor taxa de prenhez, quando comparadas às novilhas com maior percentual taurino (3/4 Hereford- 1/4 Nelore e Hereford), em estação de monta de 77 dias (41,8% vs. 66,2%, respectivamente) (ROCHA E LOBATO, 2002). Adicionalmente, Restle *et al.* (1999) mostraram que, independentemente da idade (12, 18, 24 ou 28 meses), fêmeas Nelore apresentam menor porcentagem de puberdade/manifestação de estro (0% vs. 7,2%; 16,7% vs. 50,6%; 25,0% vs. 68,2%; 70,0% vs. 100%, respectivamente), quando comparadas às novilhas cruzadas (Nelore vs. Charolês).

2.5 INDUÇÃO DE PUBERDADE EM NOVILHAS

Devido aos baixos índices de prenhez de novilhas pré-púberes durante a estação de monta, alguns manejos alternativos podem ser utilizados para melhorar essas taxas. Assim, a hormonioterapia pode ser utilizada com o objetivo de estimular o primeiro estro antes do início da estação reprodutiva. Estes tratamentos tendem a aumentar a proporção de novilhas em estro, com CL de duração normal após a

ovulação, reduzindo a ocorrência de ciclos curtos (RASBY *et al.*, 1998; PATTERSON *et al.*, 1990)

As primeiras tentativas de controlar a função ovariana de fêmeas bovinas datam de 1948 quando Christian e Casida testaram o uso da P4 com o intuito de inibir a ovulação. Eles demonstraram que, com a suspensão da medicação, uma grande parte dos animais apresentavam sintomas de estro (CHRISTIAN E CASIDA, 1948). Após duas décadas, a P4 começou a ser utilizada, em associação ao estradiol, com sucesso, para sincronização do ciclo estral (WILTBANK e KASSON, 1968).

Vários estudos têm demonstrado a eficiência da associação de P4 à estrógenos para melhorar a taxa de manifestação de estro e os índices de prenhez em novilhas próximas à puberdade (RASBY *et al.*, 1998, WHISNANT e BURNS, 2002; SÁ FILHO *et al.*, 2011; CABRAL *et al.*, 2013; SÁ FILHO *et al.*, 2015). A P4 é capaz de induzir a puberdade por reduzir o número de receptores de estrógeno no hipotálamo, reduzindo o *feedback* negativo do estradiol sobre a liberação de GnRH (DAY E ANDERSON, 1998), com isso promove a regulação na liberação de LH, levando ao pico de LH, e aumentando a concentração de estradiol e o crescimento folicular (ANDERSON *et al.*, 1996; IMWALLE, PATTERSON, SCHILLO, 1998).

Além disso, no primeiro ciclo estral, a pré-exposição à P4, reduz a concentração de ROT no endométrio (ZOLLERS *et al.*, 1993), os quais são necessários para a liberação de PGF (WATHES E LAMMING, 1995). Com isso, é possível evitar a ocorrência de ciclos curtos.

Diversas fontes de P4 já foram testadas para indução de puberdade: administração de progestágenos no alimento (acetato de melangestrol- MGA), implantes subcutâneos com norgestomet e dispositivos intravaginais com liberação sustentada de P4 (GONZALEZ-PADILLA, NISWENDER e WILTBANK *et al.*, 1975; PATTERSON *et al.*, 1990; PATTERSON E CORAH, 1992; HALL *et al.*, 1997; IMWALLE, PATTERSON, SCHILLO, 1998; RASBY *et al.*, 1998). Estudos envolvendo a utilização do MGA, para indução de puberdade em novilhas, apresentam resultados variados (PATTERSON *et al.*, 1990; PATTERSON E CORAH, 1992; IMWALLE, PATTERSON, SCHILLO, 1998; MARTINS *et al.*, 2015). Já a utilização de implante subcutâneo de norgestomet, por 9-10 dias, é associada a bons resultados na indução de estro e taxa de prenhez em novilhas (HALL *et al.*, 1997; SÁ FILHO *et al.*, 2011).

O uso do estradiol para a indução de puberdade, entretanto, só é benéfico quando associado à pré-exposição à P4. O uso apenas do estradiol é capaz de

Revisão de Literatura

desencadear um pico de liberação de LH em novilhas pré-púberes, mas não leva a ovulação e formação de um CL funcional, se esse não for associado a uma pré-exposição à P4 (GONZALEZ-PADILLA, NISWENDER e WILTBANK *et al.*, 1975).

Para Rasby *et al.* (1998), o tratamento de novilhas com dispositivos intravaginais de P4, associado ou não ao benzoato de estradiol (BE), aumenta a porcentagem de animais com CL de duração normal, reduz a ocorrência de ciclos estrais curtos e aumenta a taxa de animais exibindo sinais de estro. Além disso, a associação da P4 ao BE apresenta melhores resultados, quando comparado aos resultados apresentados apenas com P4. Assim, a função luteínica normal foi induzida em aproximadamente 55% das novilhas tratadas com P4.

Da mesma forma, Whisnant e Burns (2002) trataram novilhas Angus e Simental pré-púberes com microesfera de P4 (625 mg intramuscular; I.M.), microesfera de estradiol ou com a combinação de P4 e estradiol para indução de puberdade nesses animais. O tratamento apenas com estradiol resultou em estro em todas as novilhas, porém sem a formação de CL funcional. Os demais tratamentos resultaram em 84,6 e 76,9% de manifestação de estro nas novilhas dos grupos P4 e P4 associado ao estradiol, respectivamente. Essas manifestações de estro foram associadas à altas concentrações de P4, consistente com ovulação e formação de CL. Esses autores concluíram que tanto a P4, quanto a associação de P4 com estradiol, foram igualmente efetivos em induzir a ciclicidade.

Utilizando novilhas cruzadas com Charolês e Hereford, pré-púberes e de várias idades (9,5; 11,0 e 12,5 meses de idade), Hall *et al.* (1997) avaliaram o efeito do tratamento com Norgestomet para indução de puberdade. Parte dos animais recebeu o dispositivo auricular (6 mg de Norgestomet, por 10 dias), e a outra parte permaneceu sem o dispositivo. Nos animais de 12,5 meses de idade, grande parte de animais tratados com Norgestomet (82%) apresentou estro dentro de 5 dias após a retirada do dispositivo, quando comparados com os animais controle (9,0%). O tratamento com Norgestomet não induziu puberdade nos animais mais jovens de 9,5 e 11 meses de idade. O Norgestomet também aumentou a frequência de pulsos de LH em todas as idades, porém a concentração de LH aumentou apenas nas novilhas mais velhas, de 12,5 meses.

Utilizando novilhas Nelores de 24 meses, Claro Júnior *et al.* (2010) compararam a indução de puberdade com dispositivos de P4 de primeiro e quarto usos (previamente usado por 24 dias). Os dispositivos permaneceram nas novilhas por 12

Revisão de Literatura

dias e após sua retirada foi feita observação de estro durante 45 dias. As novilhas em estro foram inseminadas 12 h após a observação e as demais novilhas foram expostas a touros por mais 45 dias. Novilhas pré-púberes, que receberam dispositivos de quarto uso apresentaram, no dia da sua retirada, maior diâmetro folicular, maiores taxas de detecção de estro e de concepção, em sete dias de estação de monta, quando comparadas às novilhas do grupo controle. Os animais que receberam dispositivos de primeiro uso também apresentaram maior taxa de detecção de estro em sete dias de estação de monta, quando comparados às novilhas do grupo controle. Porém, não apresentaram diferenças no diâmetro do maior folículo e na taxa de concepção em sete dias de estação de monta (CLARO JÚNIOR *et al.*, 2010).

Além disso, Cabral *et al.*, 2013 e Rodrigues *et al.*, 2013 demonstraram a possibilidade de indução de estro, em novilhas pré-púberes da raça Nelore, com dispositivos intravaginais de P4 de quarto uso, associado ao BE no dia do implante, e no dia da sua retirada (8 dias depois), ou gonadotrofina coriônica equina (eCG) e/ou cipionato de estradiol (ECP) na remoção do dispositivo, respectivamente. Tanto o dispositivo de primeiro, quanto o de quarto uso (previamente usado por 24 dias) são capazes de manter uma concentração de P4 acima de 1 ng/ml, por pelo menos 7 dias (SÁ FILHO *et al.*, 2015). A utilização do dispositivo de quarto uso, associada com BE ou ECP, é capaz de levar à uma taxa de ovulação de 64 e 67%, respectivamente, superior à taxa do controle (42,5%) (SÁ FILHO *et al.*, 2015).

Atualmente, a indução de puberdade com P4 injetável de longa ação vem sendo testada pelo nosso grupo de pesquisa (LEMES, 2017). Foi possível observar uma taxa de ciclicidade de 68,64% (81/118) após tratamento com 150 mg de P4 injetável por 10 dias, em novilhas Nelore pré-púberes de 13 meses, similar aos 63,25% (74/117) de ciclicidade nas novilhas tratadas com dispositivo de terceiro uso e superior aos 4,92% (6/122) de ciclicidade do grupo controle. Além disso, foi observada uma taxa de prenhez de 42,74% (50/117) nas novilhas tratadas com P4 injetável de longa ação, superior aos 26,49% (31/117) e 24,59% (30/122) de prenhez dos animais tratados com dispositivo de P4 de terceiro uso e controle, respectivamente. A dose de 150 mg de P4 injetável de longa ação é suficiente para sustentar concentração de P4 acima de 1 ng/ml, por 11 dias, em novilhas Nelore pré-púberes (NETO *et al.*, 2017).

2.6 EMPREGO DA IATF EM NOVILHAS

Para alcançar alta performance reprodutiva e garantir máxima produção animal com rentabilidade, faz-se necessária a incorporação de programas reprodutivos na rotina das fazendas. Os programas de sincronização da ovulação têm apresentado bons resultados e possibilitam a utilização da IATF em vacas (BARUSELLI *et al.*, 2004). Porém, os protocolos hormonais utilizados para vacas lactantes nem sempre apresentam boa eficiência quando utilizados em novilhas. Os baixos índices de prenhez dos protocolos convencionais, quando utilizados em novilhas, normalmente estão relacionados com baixa taxa de ovulação ao final do tratamento (SÁ FILHO *et al.*, 2008). Por esse motivo, vários protocolos têm sido desenvolvidos, conforme categoria animal e raça, com o objetivo de aumentar os índices reprodutivos no final da estação reprodutiva.

Os primeiros resultados positivos de sincronização de ovulação surgiram em meados dos anos 1990 com o desenvolvimento do protocolo Ovsynch (GnRH no D0; PGF no D7; GnRH no D9; IATF 16 h após; PURSLEY *et al.*, 1995). Esse protocolo faz uso do GnRH para induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (PURSLEY *et al.*, 1995; BURKE *et al.*, 1996; PURSLEY *et al.*, 1997). Protocolos Ovsynch apresentam resultados variados e são pouco eficientes em novilhas (PURSLEY *et al.*, 1997). Modificações no protocolo Ovsynch vêm sendo testados, com o objetivo de melhorar sua eficiência e diminuir o número de manejos.

Recentemente, o protocolo J-Synch, que foi desenvolvido após várias modificações no protocolo Ovsynch, tem sido avaliado e tem apresentado bons resultados em novilhas. O protocolo faz uso de BE e dispositivo de P4 no D0, aplicação de PGF no D6 (período reduzido de exposição à P4) e inseminação no D9 (pró-estro mais longo de 72 h) associado a uma dose de GnRH (DE LA MATA *et al.*, 2013).

A eficiência do protocolo J-Synch foi demonstrada inicialmente por De la Mata e Bó (2014) em novilhas de corte *Bos taurus*, entre 16 e 17 meses de idade. Esses autores dividiram os animais aleatoriamente em dois grupos: (BE 6 d) novilhas que receberam no D0, 2 mg de BE e um dispositivo intravaginal de P4, e grupo 2 (GnRH 5 d), novilhas que receberam, no D1, 10,5 µg de GnRH e um dispositivo intravaginal de P4. No D6 todos os animais receberam uma aplicação de PGF e D9 foi realizada

Revisão de Literatura

a IATF associada ao GnRH no momento da inseminação. Os autores demonstraram que a taxa de ovulação (91,6% vs. 92,8%), o diâmetro folicular ($11,7 \pm 0,2$ mm vs. $12,0 \pm 0,5$ mm), o intervalo entre a PGF até a ovulação ($97,1 \pm 17,4$ h vs. $95,1 \pm 12,5$ h) e a porcentagem de prenhez (50,0%, 7/14 vs. 57,1%, 8/14), não diferiram entre os grupos BE 6 d e GnRH 5d, respectivamente, demonstrando a eficiência de ambos protocolos (DE LA MATA e BÓ, 2014). Porém, vale destacar que o número de animais utilizados para esse experimento foi muito baixo, o que exigiu outros experimentos para confirmar essa resposta.

De la Mata *et al.* (2013b) também testaram o protocolo J-Synch com observação de estro, em novilhas Aberdeen Angus, de 21 a 23 meses. De um total de 72 animais, 8 novilhas manifestaram estro entre 48 e 50 h, após a retirada do dispositivo de P4, e foram inseminadas aproximadamente 12 h antes do restante dos animais, que foram inseminados em tempo fixo. A porcentagem de prenhez geral foi de 59,7%. As novilhas que foram inseminadas na IATF e manifestaram estro, tiveram uma maior taxa de prenhez (76,3%), quando comparadas às que não manifestaram estro (42,3%; DE LA MATA *et al.*, 2013b). O mesmo protocolo também apresentou boa taxa de aproveitamento de vacas para receptoras de embrião (92,5%) e uma boa taxa de prenhez (64%) das receptoras (prenhez/transferência) (DE LA MATA *et al.*, 2013a).

Além disso, a adição de 300 UI eCG aumentou de 53,1% (692/1.303) para 57,1% (739/1.295) a taxa de prenhez no protocolo J-Synch, em novilhas cruzadas Angus e Hereford, quando a inseminação foi realizada com 72 h (MENCHACA, *et al.*, 2015). Em novilhas Nelore cíclicas, não foi observada diferença na taxa de prenhez de novilhas inseminadas com o protocolo J-Synch (47,1%, 48/102) ou o protocolo convencional (48,6%, 53/109), que consiste no implante de P4 no D0 com BE, retirada após 8 dias associado à eCG, ECP e PGF e inseminação com 48 horas da retirada do implante (MOTTA *et al.*, 2016).

O protocolo J-Synch foi desenvolvido após modificações do protocolo Co-Synch. O protocolo Co-Synch é uma variação do Ovsynch que proporciona taxa de prenhez semelhante à do Ovsynch, em animais taurinos, e diminui um manejo (GEARY e WHITTIER, 1998; GEARY *et al.*, 2001).

Anteriormente ao desenvolvimento do protocolo J-Synch, uma série de experimentos foi testada por Bridges *et al.* (2008, 2010) objetivando elevar os índices de prenhez do protocolo Co-Synch e reduzir o número de manejos. Essas pesquisas objetivaram aumentar a taxa de prenhez através da diminuição do tempo de exposição

Revisão de Literatura

à P4. O protocolo Co-Synch+CIDR 5, que consiste no implante de P4 por 5 dias e inseminação 72 h após a retirada do dispositivo, aumentou a taxa de prenhez (+10,5%) quando comparado ao Co-Synch+CIDR por 7 dias, com IATF após 60 h da retirada do CIDR, em vacas de corte Simental X Angus pós-parto (BRIDGES *et al.*, 2008). Com o protocolo Co-Synch+CIDR 5 foram alcançadas taxas de prenhez de aproximadamente 60% em novilhas Holandesas de 13 e 14 meses (RABAGLINO *et al.*, 2010) e de 70% em gado de corte *Bos taurus* (BRIDGES *et al.*, 2008). É sugerido que o aumento na taxa de prenhez está relacionado ao aumento na produção de estradiol dos folículos dominantes mais novos (BRIDGES *et al.*, 2008), o que poderia também justificar a eficiência do protocolo J-Synch.

Além disso, a diminuição do pró-estro de 2,25 dias para 1,25 dia está relacionado com menores taxas de concepção na IATF. A menor taxa de concepção está relacionada à diminuição das concentrações plasmáticas de estradiol, vindas de folículos dominantes de curta fase luteal, e com menor concentração de P4 no ciclo subsequente. Esse fato ocorre mesmo que os folículos dominantes apresentem o mesmo tamanho no momento da indução da ovulação (BRIDGES *et al.*, 2010).

3 HIPÓTESE

A utilização do protocolo de pré-sincronização da ovulação com P4 injetável de longa ação, em novilhas Nelore, aumenta o número de animais ciclando após o tratamento e melhora a taxa de prenhez após protocolo de IATF de curto período de implante de P4 e longo pró-estro (J-Synch, proposto por DE LA MATA *et al.*, 2013 e adaptado por LIMA *et al.*, 2017; pela adição de PGF no D0).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência do protocolo de pré-sincronização da ovulação com P4 injetável de longa ação, em novilhas Nelore, e a influência de seus efeitos sobre a taxa de prenhez após protocolo de IATF com curto período de implante de P4 e longo pró-estro (J-Synch, proposto por DE LA MATA *et al.*, 2013 e adaptado por LIMA *et al.*, 2017; pela adição de PGF no D0).

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a proporção de novilhas Nelore ciclando após o uso de protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação;
- Avaliar os fatores envolvidos na resposta ao protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação;
- Avaliar a taxa de prenhez e os fatores envolvidos nessa resposta, em novilhas Nelore, após protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação e protocolo de IATF com curto período de implante de P4 e longo pró-estro (J-Synch, proposto por

DE LA MATA *et al.*, 2013 e adaptado por LIMA *et al.*, 2017; pela adição de PGF no D0).

- Verificar o status puberal de novilhas Nelore conforme o desenvolvimento corporal e idade.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 659 novilhas da raça Nelore, com $21,5 \pm 3,1$ meses de idade (variando de 15 a 32 meses), peso médio de $295 \pm 23,3$ kg (de 248 a 383 kg) e ECC entre 2 e 3,5. Foram excluídas nove novilhas por terem perdido os dispositivos de P4, antes da retirada dos mesmos, onze por terem sido inseminadas no terço final da cérvice e uma novilha do grupo tratamento que apresentou cisto folicular, com diâmetro > 4 cm nos D-12 e D0, restando, portanto, 638 novilhas.

Os procedimentos foram realizados em quatro fazendas comerciais de pecuária de corte, localizadas no estado de Mato Grosso, nos municípios de Cáceres (Fazenda A, n= 171), Vila Bela da Santíssima Trindade (Fazenda B, n=192; Fazenda C, n= 182) e Jauru (Fazenda D, n= 94). Os animais foram divididos em 7 lotes de manejo.

Para a inclusão dos animais no experimento, o único critério de seleção foi o peso. Assim, foram utilizadas apenas novilhas com peso acima de 240 kg. As fêmeas das fazendas A, B e C foram mantidas em piquetes com pastagem de braquiária (*Brachiaria brizantha*) e os manejos foram realizados apenas durante a estação chuvosa (dezembro de 2015 a fevereiro de 2017). Os animais da fazenda D foram manejos durante o período de seca (junho de 2017), por isso foram confinados, recebendo grãos de milho e silagem de sorgo. As práticas envolvendo os animais foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ-USP (CEUA Certificado nº 9153080517).

5.2 AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA

Todas as novilhas foram avaliadas 22 dias antes do início do protocolo de IATF (D-22), quanto as características de desenvolvimento corporal. Cada animal foi pesado, recebeu um ECC em uma escala de 1 (muito magro) a 5 (obesa), com diferença de 0,5 ponto de uma classe para a outra (MACHADO *et al.*, 2008, modificado) e foi definida sua idade (conforme registros zootécnicos das fazendas).

Foram coletados também os dados da morfometria corporal das novilhas, mensurados com o auxílio de um hipômetro. O hipômetro utilizado no presente estudo foi sugerido por Oliveira, Bonin e Ferraz (2012) e é um equipamento bastante prático, além de ser de fácil fabricação, manuseio e de baixo custo (Figura 1). O equipamento foi montado com tubos de PVC, sendo que no tubo de PVC base foi colada uma fita métrica, formando uma régua graduada. Foi feito um cursor, com um mínimo de folga, para que esse pudesse deslizar sobre a régua graduada e permitisse realizar as medidas, em centímetros.

Com o animal contido no tronco foram mensurados os seguintes dados da morfometria corporal das novilhas: AC, correspondendo à distância entre a cernelha e o solo; altura torácica (AT), altura entre a cernelha e o esterno; LG, distância entre as extremidades das asas do íleo; e relação cernelha-tórax, calculada pela subtração da AC pela AT (relação cernelha-tórax= AC-AT).

Figura 1- Hipômetro utilizado para coleta dos dados de morfometria corporal.

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

5.3 AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS

Para as avaliações ultrassonográficas dos animais foi utilizado aparelho de ultrassom da marca DPS Mindray Modelo DP-2200 com sonda linear retal de

frequência 7,5 MHz. Os exames foram realizados nos Dias -22, -12, 0, 6 e 9 para mensurar o diâmetro do maior folículo. Foram mensurados apenas os folículos com diâmetro acima de 6 mm. Folículos menores que 6 mm foram descartados da análise estatística.

As novilhas foram submetidas a dois exames ultrassonográficos com intervalo de 10 dias (D-22 e D-12) para determinar a presença ou ausência de CL. Novilhas que possuíam CL em uma ou ambas avaliações foram consideradas púberes (n= 224), e aquelas que não possuíam CL nos dois exames foram consideradas pré-púberes (n= 414), conforme demonstrado na tabela 2.

No início do protocolo de IATF (Dia 0), 12 dias após o protocolo de pré-sincronização com P4 injetável, descrito posteriormente, as novilhas passaram por novo exame ultrassonográfico para avaliar a resposta ao protocolo (porcentagem de animais apresentando CL).

Para avaliação das taxas de prenhez foi realizada ultrassonografia no dia 39.

Tabela 2. Classificação das novilhas quanto ao status puberal, conforme a presença de corpo lúteo (CL), e distribuição dos grupos experimentais.

Status puberal	Corpo lúteo		N	N	N
	D-22	D-12	Controle	Tratamento	Total
Pré-púbere	Ausência	Ausência	113	111	224
Púbere	Presença	Ausência			
Púbere	Ausência	Presença	199	215	414
Púbere	Presença	Presença			
N total	-	-	312	326	638

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

5.4 AVALIAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO UTERINO

Para avaliação do desenvolvimento uterino, foi feita uma adaptação da classificação de ETR descrita por Anderson *et al.* (1991), para novilhas *Bos taurus*, esta que foi baseada no diâmetro dos cornos e no tônus uterino e diâmetro do folículo

dominante. Na tentativa de determinar os efeitos independentes do útero e dos ovários, optou-se por separar essas características e analisá-las separadamente.

Em estudo desenvolvido por Dahlen *et al.* (2003) já se demonstrou que novilhas (cruzadas de corte) com diâmetros uterinos menores que 20 mm, respondem pouco à sincronização de estro e apresentam baixa fertilidade. Por isso, o diâmetro uterino de 20 mm foi utilizado como ponto de corte para separar as novilhas: novilhas com cornos uterinos < 20 mm e novilhas com cornos uterinos $\geq$ 20 mm, assim como classificação descrita por Claro Junior *et al.*, (2010).

As avaliações, no presente estudo, foram feitas por palpação transretal nos dias -22, -12, 0 e 6 e foi dado um escore uterino (EU= 1-6), conforme tabela 3.

Tabela 3. Descrição dos escores uterinos.

Score Uterino (EU)	Cornos Uterinos	Tônus
1	< 20 mm	Sem tônus
2	< 20 mm	Leve tônus
3	< 20 mm	Muito tônus
4	$\geq$ 20 mm	Sem tônus
5	$\geq$ 20 mm	Leve tônus
6	$\geq$ 20 mm	Muito tônus

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

5.5 MANEJO REPRODUTIVO

Ao início do protocolo de pré-sincronização da ovulação, as novilhas foram avaliadas quanto à presença de CL, nos D-22 e D-12, para classificação como púberes e pré-púberes, conforme descrito anteriormente. Novilhas pré-púberes e púberes foram divididas, aleatória e proporcionalmente, no D-22, em dois grupos: novilhas do grupo controle (n= 312), que não passaram pelo protocolo de pré-sincronização da ovulação e novilhas do grupo tratamento (n= 326), que passaram pelo protocolo de pré-sincronização (Tabela 3). Os animais do grupo tratamento receberam uma aplicação I.M. de P4 de longa ação (150 mg -Sincrogest Injetável-

Ouro Fino) no D-22 e após 10 dias (D-12) receberam 150 µg de D- cloprostenol (Croniben- Biogenesis-Bagó) e 1 mg de BE (Bioestrogen- Biogenesis-Bagó).

Para descartar efeito de tratamento com P4 injetável, na presença de CL, no D-12, foi verificada a proporção de novilhas sem CL no D-22, que passaram a apresentar CL no D-12, entre os animais do grupo controle (7,44%, 16/215) e tratadas (5,70%, 13/228), e não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$).

Após o protocolo de pré-sincronização da ovulação, todos os animais foram submetidos ao mesmo protocolo de IATF J-Synch adaptado (proposto por DE LA MATA *et al.*, 2013 e adaptado por LIMA *et al.*, 2017). A adaptação do protocolo foi feita pela aplicação de 75 µg D- cloprostenol no início do protocolo (D0) objetivando diminuir a concentração circulante de P4 durante o protocolo de IATF e aumentar a taxa de crescimento e o diâmetro do folículo dominante e a taxa de ovulação (CARVALHO *et al.*, 2017).

Doze dias após o fim da pré-sincronização da ovulação das novilhas (D0), foi feita a inserção do dispositivo intravaginal de liberação de P4 (1,0 g de P4- Cronipres Monodose, Biogenesis-Bagó), seguida pela aplicação de 2 mg BE I.M. e 75 µg D- cloprostenol. Os dispositivos intravaginais foram mantidos por seis dias, e na sua retirada (D6) foi realizada nova aplicação de 150 µg D- cloprostenol I.M.

A única detecção de estro foi feita com 48 h (D8) após a retirada do dispositivo intravaginal de P4. A detecção de estro foi feita por técnico experiente, durante 1 hora, no piquete em que os animais se encontravam. Animais que aceitaram a monta foram considerados em estro, apartados e levados para o curral para inseminação 12 h após. As demais novilhas, que não apresentaram estro com 48 h, foram inseminadas em tempo fixo com 72 h após a retirada do dispositivo (D9). No momento da inseminação artificial, tanto as novilhas inseminadas com 60h, quanto as inseminadas com 72h, receberam 10,5 µg de acetato de buserelina (Gonaxal- Biogenesis-Bagó; Figura 2).

Mesmo observando estro com 48h, algumas novilhas que possuíam folículos maiores que 6 mm no momento da retirada do dispositivo de P4 (D6), ou seja, já possuíam capacidade ovulatória (GIMENES *et al.*, 2008), passaram a apresentar apenas folículos menores que 6 mm no momento da IATF. Essas novilhas foram consideradas como ovuladas antecipadamente (entre os D6 e D9). Para calcular a porcentagem de novilhas que ovularam antecipadamente (entre D6 e D9), foram excluídas as novilhas que manifestaram estro com 48h, pois essas novilhas foram

inseminadas com 60h e não foram avaliadas novamente com 72h, para confirmar a ovulação antecipada.

Todas as inseminações foram feitas por técnicos experientes (um inseminador por fazenda, n=4) e utilizadas doses de sêmen de um único touro por fazenda (n=4). A gestação foi diagnosticada após 30 dias da IATF. A novilha foi considerada prenhe quando houve a presença de conceito.

Figura 2- Delineamento experimental de pré-sincronização com P4 injetável e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em novilhas da raça Nelore.

Legenda: *US OV: Exame ultrassonográfico para avaliação do diâmetro do maior folículo e presença de CL

**EU: Escore uterino (1-6)

***DG 30: Diagnóstico de gestação com 30 dias.

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), considerando vaca como unidade experimental e um delineamento inteiramente casualizado. As variáveis dependentes contínuas,

discretas e binárias foram analisadas utilizando o procedimento MIXED, GENMOD (distribuição Poisson) e GLIMMIX (distribuição Binomial), respectivamente. Antes de proceder a ANOVA das variáveis dependentes contínuas, as premissas de normalidade do resíduo e homogeneidade das variâncias foram atendidas. Avaliou-se a normalidade do resíduo pelos gráficos de diagnóstico do PROC MIXED e pelo teste Shapiro-Wilk do PROC UNIVARIATE, utilizando o resíduo studentizado (output do PROC MIXED). O teste de Levene do PROC GLM foi utilizado para a avaliação da homogeneidade das variâncias. Quando não atendidas, os dados eram transformados e reanalisados, sendo então apresentados na sua forma original.

Para se avaliar o efeito das variáveis dependentes contínuas (idade, AC, AT, LG, relação cernelha-tórax e peso) sobre o status puberal (i.e. púbere ou pré-púbere), considerou-se no modelo, como efeito fixo, a variável independente, status puberal, e como efeito aleatório, a variável fazenda. Para a análise da variável dependente discreta, ECC, considerou-se apenas o efeito fixo de status puberal.

Para a análise dos fatores que afetam a resposta à indução de puberdade (presença ou não de CL no D0), consideraram-se no modelo, como covariáveis, as variáveis independentes: idade, peso, relação cernelha-tórax, LG e diâmetro do folículo no D-22. Apenas as novilhas consideradas pré-púberes e submetidas à indução de puberdade com P4 injetável foram utilizadas nessa análise. O efeito da covariável diâmetro folicular no D-22, sobre a indução de puberdade, foi determinada por regressão logística. Para isso, empregou-se o PROC GLM para determinar se a relação foi linear, quadrática ou cúbica, selecionando o modelo significativo mais complexo. De acordo com a relação encontrada, utilizou-se o PROC LOGISTIC DESC para se determinarem os valores de slope e intercept, que foram utilizados na seguinte equação Probabilidade = $(e^{\text{equação logística}})/(1 + e^{\text{equação logística}})$, para se determinar o efeito.

Para análise das variáveis dependentes (i) resposta ao tratamento hormonal (presença ou não de CL no D0), (ii) diâmetro folicular no D6 e D9, (iii) porcentagem de novilhas que apresentaram estro 48 h após a retirada do dispositivo, (iv) ovulação entre o D6 e D9 e (v) taxa de prenhez, consideraram-se no modelo, como efeitos fixos, as variáveis independentes: status puberal, tratamento e sua interação (fatorial 2x2), e como efeito aleatório: a variável fazenda. Foram realizadas análises secundárias (itens ii, iii, iv e v), considerando-se no modelo, como efeito fixo, a presença de CL no D0 (presença ou não de CL no D0) e as possíveis interações. Adicionalmente, para a variável taxa de prenhez, foram feitas análises inserindo-se, uma por vez no modelo,

as variáveis: estro (i.e. manifestação ou não de estro 48 h após a remoção do dispositivo) e ovulação antecipada (i.e. ovulação ou não entre D6 e D9), e as possíveis interações.

Para se determinar o efeito do diâmetro folicular no D9, sobre a taxa de prenhez, considerou-se essa variável, como covariável, no modelo que teve como efeitos fixos, as variáveis independentes: status puberal, tratamento, presença de CL no D0 e todas as possíveis interações; e fazenda como efeito aleatório. Quando significativo, o efeito da covariável foi determinado por regressão logística.

As variáveis dependentes discretas (EU no D-22, D-12 e D0) foram analisadas como medidas repetidas no tempo, utilizando o PROC GENMOD e o comando REPEATED. Para isso, consideraram-se como efeito fixo as variáveis independentes: status puberal, tratamento e a sua interação. O efeito aleatório de vaca dentro da interação status puberal*tratamento foi utilizado como termo de erro para se determinar o efeito de tratamento. Análise secundária foi realizada, inserindo-se nesse modelo, como efeito fixo, a presença de CL no D0 (presença ou não de CL no D0) e as possíveis interações. Em todos os modelos avaliaram-se as estruturas de variância-covariância. Dentre as estruturas testadas, selecionou-se aquela com o menor valor do critério de informação corrigido de Akaike (AICC). Adicionalmente, para se determinar o efeito do diâmetro folicular, no D-12, sobre o escore uterino, no D-12, considerou-se essa variável, como covariável, e como efeito fixo, a variável independente tratamento e a sua interação. Apenas as novilhas consideradas pré-púberes foram utilizadas nessa análise.

Para análise do efeito do EU, no D6, sobre a taxa de prenhez considerou-se no modelo a variável EU no D6, como efeito fixo, e posteriormente, como covariável, e fazenda como efeito aleatório. O efeito da covariável foi determinado por regressão logística.

Os efeitos das variáveis independentes foram determinados pelo teste F utilizando a soma de quadrados tipo III. Quando necessário, as médias entre os tratamentos foram comparadas utilizando o teste t protegido (i.e., a opção DIFF do comando LSMEANS) e o comando slice foi adicionado ao procedimento, para identificar o efeito de interação, em momentos específicos. Os resultados foram reportados como LSMEANS $\pm$ EPM. Em todos os casos, uma probabilidade $\leq 0,05$ foi indicativo de diferença significativa, e entre $0,05 > P \leq 0,10$ de tendência a ser significativa.

6 RESULTADOS

6.1 MEDIDAS MORFOMÉTRICAS E PESO

Novilhas púberes apresentaram maior idade ($22,4 \pm 1,37$ vs. $21,1 \pm 1,37$ meses; $P < 0,0001$), AT ($62,2 \pm 0,86$ vs. $61,1 \pm 0,85$ cm; $P < 0,0001$), LG ($40,8 \pm 0,32$ vs. $39,4 \pm 0,31$ cm; $P < 0,0001$), peso ($305,4 \pm 5,94$ vs. $292,4 \pm 5,86$ kg; $P < 0,0001$) e tenderam a apresentar maior AC ($123,8 \pm 1,27$ vs. $123,3 \pm 1,26$ cm; $P = 0,08$), quando comparadas às novilhas pré-púberes. Entretanto, não houve diferença de ECC entre as novilhas pré-púberes ($2,85 \pm 0,11$) e púberes ($2,92 \pm 0,13$, $P = 0,65$). As novilhas pré-púberes apresentaram maior relação cernelha-tórax ($62,3 \pm 1,22$ cm), quando comparadas às púberes ($61,5 \pm 1,23$ cm; $P = 0,006$; Tabela 4).

Tabela 4- Características de desenvolvimento corporal e idade segundo status puberal de novilhas.

Variáveis	Status puberal		Valor de P
	Pré-púberes	Púberes	
Número de animais (n)	414	224	-
ECC (1 - 5)	$2,85 \pm 0,11$	$2,92 \pm 0,13$	0,65
Idade (meses)	$21,1 \pm 1,37$	$22,4 \pm 1,37$	$< 0,0001$
Altura de cernelha (cm)	$123,3 \pm 1,26$	$123,8 \pm 1,27$	0,08
Altura torácica (cm)	$61,1 \pm 0,85$	$62,2 \pm 0,86$	$< 0,0001$
Largura de garupa (cm)	$39,4 \pm 0,31$	$40,8 \pm 0,32$	$< 0,0001$
Relação cernelha-tórax (cm)	$62,3 \pm 1,22$	$61,5 \pm 1,23$	0,006
Peso (Kg)	$292,4 \pm 5,86$	$305,4 \pm 5,94$	$< 0,0001$

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

6.2 RESPOSTA AO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO

Para a resposta ao protocolo de pré-sincronização, antes do protocolo de IATF (porcentagem de CL no D0), houve interação entre tratamento e status puberal ($P = 0,001$). Menor proporção de novilhas, apresentando CL no D0, foi verificada no grupo

controle, quando comparada à de novilhas do grupo tratamento. Esta diferença foi mais acentuada nas novilhas pré-púberes (controle: 11,4% (23/199) vs. tratamento: 63,7% (136/215), $P < 0,0001$), quando comparada às púberes (controle: 79,5% (92/113) vs. tratamento: 91,2% (102/111), $P = 0,002$; Figura 3).

Figura 3- Resposta ao protocolo de pré-sincronização da ovulação com P4 injetável (porcentagem de CL no D0) em novilhas Nelore pré-púberes e púberes. P interação= 0,0013

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

6.3 RESPOSTA AO PROTOCOLO DE IATF J-SYNCH ADAPTADO

Após o protocolo de pré-sincronização, todas as novilhas foram submetidas ao protocolo de IATF J-Synch adaptado. A taxa de prenhez geral foi de 42,2%. Não houve interação entre status puberal e tratamento ($P = 0,4$) para taxa de prenhez, porém houve tendência para efeito de tratamento ($P = 0,07$). Novilhas do grupo controle tenderam a apresentar menores taxas de prenhez (37,3%, 119/312), quando

comparadas às novilhas tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4 injetável (44,7%, 150/326; Tabela 5).

Em relação ao diâmetro do folículo dominante, no dia da retirada do dispositivo de P4 (D6) e no momento da IATF (D9), houve interação entre status puberal e tratamento ($P < 0,05$). Novilhas pré-púberes do grupo controle, apresentaram menores diâmetros dos folículos dominantes no D6 ($8,8 \pm 0,19$ mm), quando comparados aos das pré-púberes tratadas ($9,2 \pm 0,18$ mm, $P = 0,05$). Entretanto, o diâmetro dos folículos dominantes das novilhas púberes, do grupo controle ($9,1 \pm 0,22$ mm) e do tratamento ($8,9 \pm 0,22$ mm), não diferiram entre si ($P = 0,91$). Para os diâmetros dos folículos dominantes no D9, não houve diferença no diâmetro folicular entre as novilhas tratadas (pré-púberes: $11,1 \pm 0,13$ mm vs. púberes: $11,1 \pm 0,17$ mm; $P = 0,99$). Já para as novilhas do controle, as pré-púberes apresentaram menores diâmetros foliculares ($10,9 \pm 0,13$ mm), quando comparados aos das púberes ($11,5 \pm 0,17$ mm, $P = 0,03$; Tabela 5).

Não houve interação entre status puberal e tratamento ($P = 0,20$), porém foi observado efeito de status puberal ($P = 0,04$) e de tratamento ($P = 0,02$), para manifestação de estro 48 h após a retirada do dispositivo de P4. Novilhas controle tiveram menor manifestação de estro (15,9%, 48/312) do que novilhas tratadas (23,4%, 76/326). Novilhas pré-púberes também apresentaram menor porcentagem de manifestação de estro (15,9%, 72/414) do que novilhas púberes (23,3%, 52/224) (Tabela 5).

Para as novilhas que ovularam antes do momento da IATF (entre D6 e D9), não houve interação entre status puberal e tratamento ($P = 0,51$), porém houve efeito de tratamento ($P = 0,007$). A taxa de ovulação antecipada aumentou de 7,5% (23/258), no grupo controle, para 15,4% (42/244) no grupo tratado (Tabela 5).

Tabela 5- Média±EPM do diâmetro do folículo dominante, manifestação de estro (%), com 48 h após a retirada do dispositivo de progesterona (D8), ovulação antecipada entre D6 e D9 (%) e taxa de prenhez (%), em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.

Variáveis	Pré-púberes		Púberes		Valor de P		
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento	Trat.	Stat Pub	Int.
Número de animais (n)	199	215	113	111	-	-	-
Folículo dominante D6 (mm)	8,8 ^b ±0,19	9,2 ^a ±0,18	9,1±0,22	8,9±0,22	0,34	0,97	0,04
Folículo dominante D9 (mm)	10,9 ^d ±0,13	11,1±0,13	11,5 ^c ±0,17	11,1±0,17	0,46	0,08	0,03
Manifestação de estro 48h, % (estro/n)	11,6 (24/199)	21,7 (48/215)	21,4 (24/113)	25,2 (28/111)	0,02	0,04	0,2
Ovulação entre D6 e D9, % (ovulação/n)	7,0 (16/172)	13,0 (27/162)	7,9 (7/86)	18,1 (15/82)	0,007	0,44	0,66
Taxa de prenhez, % (P/IA)	33,6 (68/199)	44,2 (96/215)	41,1 (51/113)	45,2 (54/111)	0,07	0,35	0,40

Legenda: a,b = letras diferentes na mesma linha diferem (P = 0,05)

c,d= letras diferentes na mesma linha diferem (P = 0,03)

***Trat.= tratamento; Stat. Pub.= status puberal; Int.= interação entre tratamento e status puberal

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

6.4 FATORES QUE INFLUENCIAM A RESPOSTA AO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO

Foram analisados os fatores que influenciaram a resposta ao protocolo de pré-sincronização, anteriormente ao protocolo de IATF, nas novilhas pré-púberes, tratadas com P4 injetável. Nesse caso, o protocolo de pré-sincronização serviu como protocolo de indução de puberdade. Não foi observado efeito de idade, LG, relação cernelha-tórax e peso, para a probabilidade de indução de puberdade (P > 0,05); porém o diâmetro do maior folículo, no início do protocolo de pré-sincronização (D-22), influenciou a probabilidade de indução (P = 0,04; Tabela 6). A relação que melhor explica o efeito de diâmetro folicular no D-22, sobre a probabilidade de indução de puberdade em novilhas pré-púberes, tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4, foi linear, ou seja, para estas novilhas, quanto maior o diâmetro folicular no D-22, maior a probabilidade de responderem ao tratamento e apresentarem CL no D0 (Figura 4).

Tabela 6- Fatores que afetam a indução de puberdade em novilhas Nelore pré-púberes, tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4 injetável.

Fatores que afetam a indução de puberdade	
Fatores	P
Idade	0,34
Relação cernelha-tórax	0,33
Garupa	0,61
Peso	0,98
Diâmetro folicular no D-22	0,04

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Figura 4- Probabilidade de indução de puberdade em novilhas pré-púberes, da raça Nelore, tratadas com protocolo de pré-sincronização com progesterona injetável (n= 209), em função do diâmetro do folículo dominante no D-22. P = 0,04

Probabilidade de indução= $\exp(-1,76 + 0,24 \times \text{FD D-22}) / 1 + \exp(-1,76 + 0,24 \times \text{FD D-22})$

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Apesar disso, não houve interação entre tratamento e status puberal ($P > 0,05$) para o diâmetro do maior folículo nos dias D-22 e D0, nem diferença estatística entre os tratamentos ($P > 0,05$) ou status puberal ($P > 0,05$; Tabela 7).

Para o diâmetro do maior folículo no D-12, entretanto, houve interação entre tratamento e status puberal ($P = 0,001$). Novilhas do grupo controle apresentaram

menores diâmetros foliculares no D-12, quando comparadas às tratadas, sendo esse efeito mais acentuado nas novilhas pré-púberes (controle: $10,0 \pm 0,22$ mm vs. tratamento: $12,0 \pm 0,22$ mm; $P < 0,0001$) do que nas púberes (controle: $10,0 \pm 0,26$ vs. tratamento: $11,0 \pm 0,26$ mm; $P = 0,002$; Tabela 7).

Tabela 7- Média $\pm$ EPM do diâmetro do maior folículo nos D-22, D-12 e D0 em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.

Variáveis	Pré-púberes		Púbere		N	Valor de P		
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento		Trat.	Stat. Pub.	Int.
Diâmetro folículo D-22	9,9 $\pm$ 0,15	9,7 $\pm$ 0,15	9,9 $\pm$ 0,21	9,7 $\pm$ 0,21	601	0,13	0,65	0,78
Diâmetro folículo D-12	10,0 ^a $\pm$ 0,22	12,0 ^b $\pm$ 0,22	10,0 ^X $\pm$ 0,26	11,0 ^Y $\pm$ 0,26	597	< 0,0001	0,002	0,001
Diâmetro folículo D0	9,7 $\pm$ 0,20	9,6 $\pm$ 0,20	9,7 $\pm$ 0,23	10,0 $\pm$ 0,23	569	0,62	0,35	0,21

Legenda: *a,b $P < 0,0001$

X,Y $P = 0,002$

**Trat.= tratamento; Stat. Pub.= status puberal; Int.= interação entre tratamento e status puberal

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Ao avaliar a probabilidade de ciclicidade ao início do protocolo de IATF (presença de CL no D0), em novilhas pré-púberes tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4, a relação que melhor explica esse efeito foi a linear, ou seja, o aumento do diâmetro folicular no D-12 eleva a probabilidade de ciclicidade no D0 ($P = 0,02$; Figura 5).

Figura 5- Probabilidade de ciclicidade (presença de CL) no D0 em novilhas pré-púberes da raça Nelore, tratadas com protocolo de pré-sincronização com progesterona injetável (n=205), em função do diâmetro do maior folículo no D-12.

Probabilidade de CL no D0= $\exp(-3,08 + 0,31 \times \text{FD D-12}) / 1 + \exp(-3,08 + 0,31 \times \text{FD D-12})$

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Ao verificar as variações do escore uterino (EU) no D-12, nas novilhas pré-púberes, houve tendência à interação entre tratamento e diâmetro do maior folículo, no D-12 ($P = 0,06$). Nas novilhas pré-púberes do controle, quanto maior o diâmetro do maior folículo no D-12, maior foi o EU, sendo que esse efeito foi potencializado nas novilhas pré-púberes tratadas com P4 (Figura 6).

Figura 6- Efeito do diâmetro do maior folículo no D-12 e tratamento com protocolo de pré-sincronização com progesterona injetável, no escore uterino no D-12 em novilhas Nelore pré-púberes (n=400). P interação= 0,06

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Para as variações de EU, durante o período de pré-sincronização, houve interação entre tratamento, dias após a pré-sincronização e status puberal ($P < 0,0001$). No D-22, foi observado menor EU para as novilhas pré-púberes, independentemente de tratamento (controle: $2,79 \pm 0,13$ vs. tratamento: $2,72 \pm 0,13$), em relação às púberes (controle: $4,52 \pm 0,16$ vs. tratamento: $4,69 \pm 0,16$). No D-12, as novilhas pré-púberes, do grupo controle, mantiveram os baixos escores uterinos ($2,96 \pm 0,13$), enquanto as pré-púberes, tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4, apresentaram um aumento no EU ($4,71 \pm 0,11$). As novilhas púberes mantiveram os maiores escores uterinos (controle: $5,05 \pm 0,14$ vs. tratamento: $5,18 \pm 0,14$; $P < 0,001$). No D0, as novilhas pré-púberes, do grupo controle, apresentaram o menor EU ($3,19 \pm 0,13$; $P < 0,001$), as novilhas pré-púberes tratadas apresentaram EU intermediário ($4,73 \pm 0,11$) e para as novilhas púberes, houve tendência das novilhas do grupo controle apresentarem menor EU ($5,10 \pm 0,14$), quando comparadas às tratadas ($5,41 \pm 0,10$; $P = 0,07$; Figura 8).

Tabela 8- Média±EPM do escore uterino nos diferentes dias após a pré-sincronização (D-22, D-12 e D0), em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.

Variáveis	Pré-púberes		Púbere		N	Trat.	Valor de P		
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento			Stat. Pub.	Dias	Int.
EU D-22	2,79±0,13 ^b	2,72±0,13 ^b	4,52±0,16 ^a	4,69±0,16 ^a	635				
EU D-12	2,96±0,13 ^c	4,71±0,11 ^{b,†}	5,05±0,14 ^{a,b,†}	5,18±0,14 ^a	637	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
EU D0	3,19±0,13 ^c	4,73±0,11 ^b	5,10±0,14 ^{a,§}	5,41±0,10 ^{a,§}	637				

Legenda: *a,b,c P < 0,001

†P =0,06

§P =0,07

**EU= escore uterino; Trat.= tratamento; Stat. Pub.= status puberal; Dias= dias após a pré-sincronização; Int.= interação entre tratamento, status puberal e dias após a pré-sincronização.

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Ao avaliar as variações dos escores uterinos, durante o período de pré-sincronização, conforme a resposta ao protocolo, houve interação entre tratamento, status puberal, presença de CL no D0 e dias após a pré-sincronização. No D-22, as novilhas pré-púberes, do grupo controle, que apresentaram CL no D0, tiveram maiores escores uterinos (4,17±0,42) que as novilhas pré-púberes tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4 (2,93±0,17), e semelhante às novilhas púberes (controle: 4,71±0,18 vs. tratamento: 4,68±0,17), que não diferiram entre si. Entretanto, as novilhas pré-púberes, tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4, que apresentaram CL no D0, tiveram um aumento no EU nos D-12 e D0 (5,01±0,13 e 5,25±0,11, respectivamente), e passaram a apresentar os mesmos EU que os demais tratamentos (Figura 8).

Já para as novilhas que não responderam ao protocolo de pré-sincronização e não apresentaram CL no D0, foi observado menor EU, no D-22, para as novilhas pré-púberes, independentemente de tratamento (controle: 2,61±0,13 vs. tratamento: 2,35±0,19), em relação às púberes (controle: 3,71±0,39 vs. tratamento: 4,78±0,60). No D-12, as novilhas pré-púberes, tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4, apresentaram um aumento no EU (4,19±0,20), quando comparadas às novilhas pré-púberes, do grupo controle (2,77±0,13). Já as novilhas púberes apresentaram os maiores escores e não diferiram (tratadas: 4,78±0,60; controle: 4,86±0,34; P < 0,1). No D0, as novilhas púberes tratadas mantiveram os maiores escores uterinos (5,44±0,42) e diferiram das púberes do controle (3,62±0,39). As novilhas pré-púberes tratadas (4,73±0,11) tenderam a diferir das pré-púberes controle (2,97±0,13; P < 0,1; Figura 9).

Tabela 9- Média±EPM do escore uterino nos diferentes dias após a pré-sincronização (D-22, D-12 e D0), em novilhas Nelore pré-púberes e púberes, que responderam ou não ao protocolo de pré-sincronização.

Variáveis	Pré-púberes		Púbere		Trat	Stat. Pub.	Valor de P		
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento			Dias	Resp.	Int.
Não responderam ao protocolo de pré-sincronização (ausência CL D0)									
EU D-22	2,61±0,13 ^b	2,35±0,19 ^b	3,71±0,39 ^a	4,78±0,60 ^a					
EU D-12	2,77±0,13 ^b	4,19±0,20 ^{a,†}	4,86±0,34 ^{a,†}	4,78±0,60 ^a					
EU D0	2,97±0,13 ^{c,†}	4,73±0,11 ^b	3,62±0,39 ^{b,c,†}	5,44±0,42 ^a					
Responderam ao protocolo de pré-sincronização (presença CL D0)					0,03	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,01
EU D-22	4,17±0,42 ^a	2,93±0,17 ^b	4,71±0,18 ^a	4,68±0,17 ^a					
EU D-12	4,48±0,36	5,01±0,13	5,09±0,16	5,22±0,14					
EU D0	4,91±0,27	5,25±0,11	5,43±0,12	5,41±0,1					

Legenda: *a,b,c P < 0,01

†P < 0,1

**EU= escore uterino; Trat.= tratamento; Stat. Pub.= status puberal; Dias= dias após a pré-sincronização; Resp.= resposta ao tratamento com P4; Int.= interação entre tratamento, status puberal e dias após a pré-sincronização.

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

6.5 FATORES QUE INFLUENCIAM A TAXA DE PRENHEZ APÓS PROTOCOLO DE IATF J-SYNCH ADAPTADO

A taxa de prenhez foi influenciada pela manifestação de estro, com 48 h após a retirada do dispositivo de P4 ($P < 0,001$; Figura 7), embora não tenha sido influenciada pela ovulação antecipada entre os D6 e D9 ($P = 0,96$; Figura 8). Novilhas que manifestaram estro com 48 h e foram inseminadas com 60 h, tiveram taxa de prenhez de 66,1% (85/124), superiores aos 34,8% (185/515) de prenhez das novilhas que não manifestaram estro com 48 h e foram inseminadas em tempo fixo.

Figura 7- Efeito da manifestação de estro, com 48 h após a retirada do dispositivo de P4, sobre a taxa de prenhez (%) de novilhas Nelore.

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Figura 8- Efeito da ovulação antecipada (entre D6 e D9) sobre a taxa de prenhez (%) de novilhas Nelore.

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

A taxa de prenhez também foi influenciada pela presença de CL no D0 (P = 0,001). Novilhas que apresentaram CL no D0 tiveram taxa de prenhez de 51,5% (181/353), superiores às taxas de 30,5% (89/285), apresentadas pelas novilhas que

não apresentaram CL no D0 (Tabela 10). A presença de CL no D0 também influenciou o tamanho do folículo dominante no D9 ($P = 0,01$), sendo que novilhas que apresentaram CL no D0 tiveram maiores folículos dominantes no dia da IATF (D9; $11,3 \pm 0,13$ mm), quando comparado às novilhas que não apresentaram CL no D0 ($10,8 \pm 0,19$ mm; Tabela 10). O EU, no D6, nas novilhas que apresentaram CL no D0 ($4,65 \pm 0,14$), independentemente de tratamento, foram significativamente maiores, quando comparado às que não apresentaram ($4,07 \pm 0,21$; $P = 0,02$; Tabela 10).

Tabela 10- Influência da presença de corpo lúteo (CL) no D0 sobre a taxa de prenhez (%), o diâmetro do folículo dominante no D9 e o escore uterino (EU) no D6 de novilhas Nelore.

	Sem CL D0	Com CL D0	N	P
Taxa de prenhez (%)	30,5	51,5	638	0,001
(P/IA)	(89/285)	(181/353)		
Diâmetro folículo D9 (mm)	$10,8 \pm 0,19$	$11,3 \pm 0,13$	542	0,01
Escore uterino D6	$4,07 \pm 0,21$	$4,65 \pm 0,14$	637	0,02

Fonte: LIMA, R.S., 2017

Além disso, a presença de CL no D0 também foi importante para manifestação de estro 48 h após a retirada do dispositivo, e houve interação entre presença de CL no D0 e status puberal ($P = 0,02$). Novilhas pré-púberes, que não apresentaram CL no D0, independentemente de tratamento, tiveram menor manifestação de estro (7,7%, 22/255), quando comparadas às pré-púberes que apresentaram CL no D0 (31,5%, 50/159; $P < 0,0001$). Para as novilhas púberes, entretanto, a presença de CL no D0 não influenciou a manifestação de estro (sem CL no D0: 19,9% (5/30) vs. com CL no D0: 24,5% (47/194), $P = 0,62$; Tabela 11).

Tabela 11- Influência da presença do corpo lúteo (CL) no D0 sobre a manifestação de estro, com 48h após a retirada do dispositivo de P4, em novilhas Nelore pré-púberes e púberes.

Variável	Pré-púbere		Púbere		Int.
	Sem CL D0	Com CL D0	Sem CL D0	Com CL D0	
Manifestação de estro com 48h, % (estro/n)	7,7 ^a (22/255)	31,5 ^b (50/159)	19,9 (5/30)	24,5 (47/194)	0,02

Legenda: *a,b = letras diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,0001$)

**Int.= interação entre presença de CL no D0 e status puberal

Fonte: LIMA, R.S., 2017

Ao avaliar a probabilidade de prenhez, foi observada interação entre folículo dominante no momento da IATF (D9) e status puberal ($P < 0,05$) ou presença de CL no D0 ($P < 0,05$). A probabilidade de prenhez aumentou com o aumento do diâmetro do folículo no D9, sendo que, nas novilhas púberes, a probabilidade de prenhez foi maior do que nas novilhas pré-púberes, quando os diâmetros foliculares foram maiores (Figura 9).

Para as novilhas que possuíam folículos dominantes até 14 mm de diâmetros no D9, a presença de CL no D0, aumentou a probabilidade de prenhez, em comparação às novilhas que não apresentam CL no D0. Esse efeito deixou de ocorrer nas novilhas que apresentaram folículos acima de 14 mm de diâmetro (Figura 10).

O EU, no D6, também influenciou a probabilidade de prenhez, sendo que o aumento do EU foi relacionado a uma maior probabilidade e taxa de prenhez (Figura 11).

O EU no D6, foi influenciado pelo status puberal ($P = 0,01$), sendo que novilhas púberes apresentaram maior EU ($4,58 \pm 0,14$) que novilhas pré-púberes ($4,16 \pm 0,10$). Embora o diâmetro do folículo dominante no D6 não tenha tido relação com o EU no D6 ($P = 0,84$).

Figura 9- Probabilidade de prenhez em função do diâmetro do folículo dominante no momento da IATF (D9) e status puberal, em novilhas da raça Nelore.

Probabilidade de prenhez novilhas pré-púbere= $\exp(-3,46 + 0,26 \times \text{FD D9}) / 1 + \exp(-3,46 + 0,26 \times \text{FD D9})$

Probabilidade de prenhez novilhas públicas= $\exp(-4,84 + 0,41 \times \text{FD D9}) / 1 + \exp(-4,84 + 0,41 \times \text{FD D9})$

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Figura 10- Probabilidade de prenhez em função do diâmetro do folículo dominante no D9 e presença de CL no D0, em novilhas da raça Nelore.

Probabilidade de prenhez, ausência CL D0= $\exp(-5,50 + 0,42 \times \text{FD D9}) / 1 + \exp(-5,50 + 0,42 \times \text{FD D9})$

Probabilidade de prenhez, presença CL D0= $\exp(-2,45 + 0,22 \times \text{FD D9}) / 1 + \exp(-2,45 + 0,22 \times \text{FD D9})$

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

Figura 11- Probabilidade de prenhez e taxa de prenhez em função do escore uterino (EU) no momento da retirada do dispositivo de progesterona (D6), em novilhas da raça Nelore.
 Probabilidade de prenhez= $\exp(-0,94 + 0,13 \times \text{EU D6}) / 1 + \exp(-0,94 + 0,13 \times \text{EU D6})$

Fonte: (LIMA, R.S., 2017).

7 DISCUSSÃO

Ao início do protocolo de pré-sincronização, as novilhas que já haviam atingido a puberdade apresentaram maior idade e eram mais pesadas, quando comparadas às novilhas pré-púberes. Já foi amplamente demonstrado que peso e idade são variáveis que podem influenciar o início da puberdade (ALENCAR *et al.*, 1987; AZAMBUJA, 2003; SANTOS e SÁ FILHO, 2006) e são dependentes entre si (GOTTSCHAL *et al.*, 2005).

No Brasil, novilhas Nelore, em sistema de pastejo extensivo, apresentam idade à concepção de 24-25 meses (ALENCAR *et al.*, 1987; RESTLE *et al.*, 1999; PEREIRA *et al.*, 2002), média próxima à encontrada no presente estudo para as novilhas púberes (22,4 meses). Para entrar na puberdade, é fundamental que a novilha atinja um determinado grau de desenvolvimento corpóreo, que é consequência da sua idade e ganho de peso (RESTLE *et al.*, 1999).

Os mecanismos envolvidos com o início da puberdade não são completamente conhecidos, mas envolvem interações entre o sistema neural e endócrino. Próximo à puberdade, há o aumento na concentração circulante de leptina, que é uma proteína produzida pelos adipócitos, e seu RNAm (GARCIA *et al.*, 2002). Ela exerce uma modulação central, através do NPY e do POMC, regulando os picos de liberação de LH (FOSTER e NAGATANI, 1999; WILLIAMS *et al.*, 2002). O ECC é uma ferramenta muito utilizada para estimar o estado nutricional dos animais em função da sua cobertura muscular e da deposição de gordura e é altamente relacionada à puberdade dos mesmos (SEMMELMANN *et al.*, 2001; AZAMBUJA, 2003). No presente estudo, entretanto, não foi verificada diferença estatística no ECC entre as novilhas púberes e pré-púberes. Esse fato pode ter ocorrido devido à boa condição corporal das novilhas estudadas.

As novilhas púberes apresentaram maior AT, LG e tenderam a apresentar maior AC, quando comparadas às novilhas pré-púberes. Características morfométricas, como AC, AT e LG, embora pouco utilizadas, foram relacionadas com fertilidade em novilhas Nelore (ABUD, 2010). Abud (2010) demonstrou que novilhas que se tornaram prenhes na estação de monta apresentavam maior AC, AT e LG.

Além disso, maiores áreas pélvicas são relacionadas com melhores ETR e maiores taxas de prenhez (DAHLEN *et al.*, 2003). Existe um alto grau de

interdependência entre puberdade e características de altura corporal. Altura parece ser menos suscetível às variações ambientais e de disponibilidade de alimentos, do que peso vivo; é atingida mais cedo na vida adulta, por isso pode ser uma boa ferramenta para auxiliar a seleção de animais de desenvolvimento precoce (BAKER *et al.*, 1988).

Na década de 80, muitos selecionadores tiveram influência da referência do moderno novilho de corte, *new type*, que preconizava animais longilíneos, altos e de costelas pouco profundas (SANTIAGO, 1983). A busca por este perfil levou à seleção de animais mais pesados, porém mais tardios. No presente estudo, apesar das novilhas púbères apresentarem maior AC e AT, elas tiveram menor relação cernelha-tórax, que é um cálculo aproximado do comprimento dos membros. Escores visuais desenvolvidos para ajudar na seleção de animais mais precoces levam em consideração a maior proporção entre profundidade de costela em relação à altura de seus membros (KOURY FILHO *et al.*, 2009). A seleção de animais mais altos, ainda que indiretamente, pode levar ao aumento da estrutura corporal média dos animais, o que pode estar correlacionado com menor precocidade (KOURY FILHO *et al.*, 2009). Por isso, para seleção de animais mais precoces, além da AC, a AT também deve ser levada em consideração.

No presente estudo, o tratamento com protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação foi eficiente em aumentar o número de novilhas Nelore cíclicas, doze dias após o tratamento. Foi verificada interação entre tratamento e status puberal, uma vez que para as novilhas pré-púbères, houve um aumento de 11,4% para 63,7% de novilhas apresentando CL, após o tratamento de pré-sincronização, taxa superior à encontrada para as novilhas púbères.

Resultados semelhantes foram encontrados por Rasby *et al.* (1998) e Sá Filho *et al.* (2015), em que a utilização de dispositivos de P4 de primeiro (1,9 g) e quarto usos, associados ao BE, em novilhas peripúbères, foi capaz de levar à uma taxa de ovulação de 68 e 64%, respectivamente. Para as novilhas do grupo controle, não tratadas, entretanto, Rasby *et al.* (1998) encontraram taxas de indução de puberdade muito baixas (12%) e próximas às encontradas no presente estudo (11,4%).

Após o protocolo de pré-sincronização da ovulação com P4 injetável, as novilhas foram submetidas ao protocolo J-Synch adaptado (D0: dispositivo de P4, associado a BE e PGF; D6: remoção do dispositivo e PGF; D9: IATF associada a GnRH). A taxa de prenhez geral foi de 42,2%. A eficiência do protocolo J-Synch foi

demonstrada inicialmente por De la Mata e Bó (2014), em novilhas de corte *Bos taurus taurus*, de 16-17 meses de idade. Os autores obtiveram taxa de prenhez de 50,0% (7/14) nesses animais (DE LA MATA e BÓ, 2014), semelhante à encontrada para os animais inseminados com o protocolo Co-Synch+CIDR 5 (57,1%, 8/14; D0: GnRH + dispositivo de P4; D5: PGF e retirada do dispositivo; D8: IA + GnRH).

Mais recentemente, o protocolo J-Synch, associado à 200 UI de eCG no D6, foi testado em novilhas Nelore cíclicas (MOTTA *et al.*, 2016). Não foi observada diferença na taxa de prenhez proporcionada pelo protocolo J-Synch (47,1%, 48/102) ou pelo protocolo convencional (48,6%, 53/109; dispositivo de P4 + BE no D0; retirada do dispositivo + eCG, ECP e PGF no D8 e inseminação no D10).

No presente estudo, a taxa de prenhez proporcionada pelo protocolo J-Synch adaptado apresentou tendência a ser influenciada por tratamento. O protocolo de pré-sincronização com P4 injetável tendeu a aumentar a taxa de prenhez das novilhas tratadas (controle: 37,3% vs. tratamento: 44,7%). Diversas fontes de P4 já foram testadas para indução de puberdade: administração de progestágenos no alimento (MGA), implantes subcutâneos com norgestomet e dispositivos intravaginais com liberação sustentada de P4 (GONZALEZ-PADILLA, NISWENDER e WILTBANK, 1975; PATTERSON *et al.*, 1990; PATTERSON E CORAH, 1992; HALL *et al.*, 1997; IMWALLE, PATTERSON, SCHILLO, 1998; RASBY *et al.*, 1998). A utilização de implante subcutâneo de norgestomet (HALL *et al.*, 1997; SÁ FILHO *et al.*, 2011) ou de dispositivos intravaginais de terceiro ou quarto usos (CLARO JÚNIOR *et al.*, 2010), para indução de puberdade, aumentam as taxas de manifestação de estro e de prenhez em novilhas, quando comparadas às novilhas não tratadas.

Estudos preliminares do nosso grupo de pesquisa (LEMES, 2017) demonstraram a melhor eficiência da P4 injetável em relação ao dispositivo de P4 de terceiro uso, em novilhas Nelore pré-púberes, de 13 meses de idade. O uso da P4 aumentou a taxa de indução da puberdade tanto nas novilhas que receberam a P4 injetável (68,64%, 81/118), quanto nas que receberam o dispositivo intravaginal (63,25%, 74/117), quando comparadas ao grupo controle, sem tratamento (4,92%, 6/122). Além disso, a taxa de prenhez aumentou para 42,74% (50/117) nas novilhas tratadas com P4 injetável, superior aos 26,49% (31/117) e 24,59% (30/122) dos animais tratados com dispositivo de P4 de terceiro uso e controle, respectivamente. Além de aumentar a taxa de prenhez, a P4 injetável tem manejo mais fácil e é mais barata.

No presente estudo, o protocolo de pré-sincronização com P4 injetável aumentou a manifestação de estro com 48 h após a retirada do dispositivo de P4 e o número de novilhas ovuladas antecipadamente (entre D6 e D9). Ao testarem o protocolo J-Synch com observação de estro, em novilhas Aberdeen Angus, de 21 a 23 meses, De la Mata *et al.* (2013b) observaram uma taxa de 11% (8/72) de novilhas que manifestaram estro entre 48 e 50 h, após a retirada do dispositivo de P4, taxas semelhantes às observadas para as novilhas do grupo controle no presente estudo.

O protocolo de pré-sincronização com P4 também aumentou o diâmetro do folículo dominante no D6, para as novilhas pré-púberes tratadas, quando comparado ao das pré-púberes controle. Esse aumento do diâmetro do folículo dominante das novilhas pré-púberes tratadas, que ocorreu no D6, deixou de ser observado no D9. Essa diferença de resposta pode, possivelmente, ser explicada pelo aumento na taxa de ovulação antecipada nas novilhas tratadas, o que causou o impedimento da avaliação do máximo diâmetro folicular nesses animais e pode ter feito com que a média do diâmetro do folículo dominante diminuísse.

Mesmo observando estro com 48 h após a retirada dos dispositivos de P4, algumas novilhas que possuíam folículos maiores que 6 mm no momento da retirada do dispositivo de P4 (D6), ou seja, já possuíam capacidade ovulatória (GIMENES *et al.*, 2008), passaram a apresentar apenas folículos menores que 6 mm no momento da IATF, e foram consideradas como ovuladas. Existem algumas possibilidades para justificar a não observação de estro nesses animais ovulados antecipadamente: aumento nas “ovulações silenciosas” no primeiro e segundo ciclos estrais de novilhas (DEL VECCHIO *et al.*, 1992), a ocorrência de estro antes das 48 h após a retirada do dispositivo, ovulação próxima ao momento da IATF, ou apenas uma simples falha de detecção do estro. Embora não tenha sido verificado, é possível que esses animais ovularam pouco tempo antes da inseminação, visto que a taxa de prenhez não foi influenciada pela ovulação antecipada.

Ao avaliar os fatores relacionados à resposta ao protocolo de pré-sincronização (presença de CL no D0), foi observado que nas novilhas pré-púberes, alocadas ao grupo tratado, o diâmetro folicular, no D-22, foi relacionado à uma maior probabilidade de resposta ao tratamento. Os 50 dias que antecedem a puberdade nas novilhas é denominado de período peripúbere. Nesta fase, há um aumento do diâmetro máximo do folículo dominante e na concentração plasmática de estradiol (BERGFELD *et al.*, 1994; ANDERSON *et al.*, 1996; HONARAMOOZ *et al.*, 2004), capaz de reduzir o

feedback negativo exercido pelo estradiol, pela diminuição da concentração de seus receptores no hipotálamo e/ou hipófise (DAY *et al.*, 1987). Próximo à primeira ovulação, também ocorre um rápido aumento do diâmetro do útero, cérvix e vagina (HONARAMOOZ *et al.*, 2004). Novilhas com úteros mais desenvolvidos e folículos maiores respondem melhor ao protocolo de sincronização, por estarem mais próximas à ovulação (DAHLEN *et al.*, 2003), o que foi observado para as novilhas do presente estudo.

Após 10 dias de exposição à P4 injetável, o diâmetro do maior folículo, no D-12, passou a depender da interação entre tratamento e status puberal. Novilhas do grupo controle apresentaram menores diâmetros foliculares no D-12, quando comparadas às tratadas, sendo esse efeito mais acentuado nas novilhas pré-púberes do que nas púberes. Além disso, o diâmetro folicular, no D-12, das novilhas pré-púberes tratadas, está diretamente relacionado ao aumento da probabilidade de ciclicidade no D0.

Embora não tenha sido testada, essa diferença no diâmetro folicular, segundo tratamento, nos animais pré-púberes, provavelmente ocorreu devido ao aumento dos pulsos de LH. Em estudos anteriores já se demonstrou que a P4 é capaz de induzir a puberdade/ciclicidade por reduzir o número de receptores de estrógeno no hipotálamo, reduzindo o *feedback* negativo do estradiol sobre a liberação de GnRH (DAY E ANDERSON, 1998). Com isso, há uma regulação na liberação de LH, que leva ao aumento no crescimento final do folículo e, finalmente, ao pico de LH (ANDERSON *et al.*, 1996; IMWALLE, PATTERSON, SCHILLO, 1998).

Achados semelhantes foram encontrados por Imwalle, Patterson, Schillo (1998), em que o uso de uma fonte exógena de P4 (MGA) aumentou o diâmetro do folículo dominante e a ciclicidade de novilhas pré-púberes. Concentrações subluteínicas de P4 (1,5 a 2,3 ng/mL) estimulam a liberação pulsátil de LH, enquanto que altas concentrações de P4 (3,5-6 ng/ml) a inibem (STOCK *et al.*, 1993). Teores plasmáticos de P4 acima de 1 ng/mL, durante 11 dias, foram comprovadas por Neto *et al.* (2017) ao utilizarem 150 mg de P4 injetável de longa ação (Sincrogest Injetável®). Após esse período, os teores de P4 diminuem (NETO *et al.*, 2017). A aplicação de uma fonte de estradiol exógena ao final da fase luteínica, estimula o pico de LH, a ovulação e a formação de um CL (GONZALEZ-PADILLA, NISWENDER e WILTBANK, 1975). No presente estudo, foi aplicado 1 mg de BE no D-12, com objetivo de induzir pico de LH e ovulação.

O aumento do diâmetro folicular no D-12, para as novilhas tratadas com P4, pode ter sido mais acentuado para as novilhas pré-púberes, quando com parado às púberes, devido à presença de CL nas novilhas púberes. Como citado anteriormente, altas concentrações de P4 inibem a liberação pulsátil de LH (STOCK *et al.*, 1993), o que pode ter ocasionado a diminuição do máximo diâmetro folicular nas novilhas púberes. As novilhas pré-púberes, entretanto, por não possuírem CL, apresentaram um maior diâmetro folicular, no D-12.

No presente estudo, o EU foi baseado no diâmetro e turgidez uterina. Novilhas classificadas com escores de 1 a 3, possuíam pequenos diâmetros uterino (< 20 mm), e as classificadas com escores de 4 a 6 apresentavam úteros maiores e mais desenvolvidos (> 20 mm). Para as novilhas púberes, houve pequena variação no EU ao longo do tempo de tratamento, entre controle e tratamento, apresentando-se sempre superior às novilhas pré-púberes. Os altos EU, apresentados pelas novilhas púberes, refletem o aumento do diâmetro uterino nesses animais, com variações apenas na turgidez uterina conforme a fase do ciclo estral (BONAFOS, KOT E GINTHER, 1995). Nas novilhas púberes, após a retirada da fonte de P4 exógena (queda na concentração da P4 injetável), e da fonte endógena (lise do CL após aplicação da PGF no D-12), uma elevada porcentagem de novilhas irá apresentar estro dentro de 1 a 5 dias (HENRICKS *et al.*, 1974). Para as novilhas púberes que não apresentaram CL no D0, houve um aumento do EU das novilhas tratadas, quando comparada às do controle. Isso provavelmente ocorreu, pois, a maioria dessas novilhas que não ovularam, continuaram apresentando folículos de grandes diâmetros e com alta produção de estradiol, o que levou ao aumento do EU.

A exposição de novilhas pré-púberes à P4 injetável melhorou o EU desses animais, após dez dias de exposição (D-12). Do mesmo modo, o aumento do EU, no D-12, em novilhas pré-púberes, foi linearmente relacionado ao aumento do diâmetro folicular no D-12, potencializado pela P4. Resultados semelhantes foram demonstrados por Claro Júnior *et al.* (2010). O aumento do EU está relacionado ao aumento do peso e diâmetro uterinos que antecedem a puberdade em novilhas pré-púberes (DAY *et al.*, 1987; HONARAMOOZ *et al.*, 2004). Acredita-se que o aumento do peso uterino esteja relacionado ao aumento do estradiol, que é consequência do aumento na secreção de LH (DAY *et al.*, 1987).

O estradiol pode influenciar o aumento no peso uterino, pela proliferação das células endometriais e remodelação dos seus tecidos. O estradiol também é

responsável por aumentar a hipertrofia do epitélio glandular (MURRAY, 1992; JOHNSON *et al.*, 1997). Além disso, a P4 também pode influenciar as secreções endometriais (JOHNSON *et al.*, 1997; HUGENTOBLE *et al.*, 2010; MULLEN *et al.*, 2012). Embora as concentrações de estradiol não tenham sido avaliadas no presente trabalho, provavelmente novilhas pré-púberes, expostas à P4 injetável, apresentaram maiores concentrações de estradiol, já que tiveram maior crescimento folicular e, conseqüentemente, maiores escores uterinos, quando comparadas às pré-púberes controle.

Algumas novilhas pré-púberes, do grupo controle, mesmo sem receberem o protocolo de pré-sincronização com P4, apresentaram CL no D0. Ao avaliar as variações dos EU, durante o período de pré-sincronização, conforme a resposta ao protocolo, é possível observar que essas novilhas que apresentavam CL no D0, do grupo controle, já tinham altos EU no D-22, semelhantes às novilhas púberes. Devido ao alto EU observado para essas novilhas pode-se dizer que eram novilhas peripúberes e ovularam espontaneamente, por estarem próximas ao momento de ovulação (HONARAMOOZ *et al.*, 2004).

Entre os efeitos que influenciaram a taxa de prenhez, encontraram-se a manifestação de estro com 48 h após a retirada do dispositivo de P4 e presença de CL no D0. É bem estabelecido que o intervalo entre o início do estro e a ovulação é de aproximadamente 28 h (WALKER, NEBER, MCGILLIARD, 1996; MIZUTA, 2003), e que a duração média do estro é de cerca de 10,4 h (BERTAN *et al.*, 2006). No presente estudo, os animais detectados em estro, 48 horas após a retirada dos dispositivos de P4, foram inseminados 12 h após, com o objetivo de se aproximar do momento da ovulação e aumentar a taxa de prenhez. Além disso, a ocorrência de estro após os tratamentos de sincronização está associada à maior taxa de ovulação, maior concentração de P4 no ciclo subsequente e maior taxa de concepção após a inseminação (HILLEGASS *et al.*, 2008; SÁ FILHO *et al.*, 2010), o que poderia justificar o ocorrido no presente experimento.

A taxa de prenhez também foi influenciada pela presença de CL no D0. Novilhas que apresentaram maior porcentagem de CL no D0, tiveram maior diâmetro do folículo dominante no D9, maior taxa de manifestação de estro com 48 h após a retirada do dispositivo (para as novilhas pré-púberes) e ovulação antecipada. Este fato pode, à primeira vista, parecer controverso, uma vez que já se demonstraram relação inversa entre concentração de P4 e tamanho do folículo dominante no momento da

inseminação (PERES *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 2017). Entretanto, vale lembrar que, no presente estudo, todas as novilhas receberam uma aplicação de PGF no momento da colocação do dispositivo de P4.

Em 2009, Pegorer demonstrou que a utilização de PGF no início do protocolo de IATF, em novilhas púberes, não aumentou a taxa de ovulação e nem de prenhez. Entretanto, Carvalho *et al.* (2017), utilizando o mesmo protocolo de IATF em novilhas púberes, porém pré-sincronizadas com duas aplicações de PGF, observaram que os animais tratados apresentaram aumento no diâmetro do folículo dominante, aumento na taxa de crescimento diário deste folículo, tendência para ovularem antes e maiores taxas de ovulações. Isso provavelmente ocorreu, pois, a resposta à aplicação da PGF, em dias aleatórios do ciclo, é bastante variável. Novilhas tratadas com PGF durante 3 períodos do ciclo estral (dias 3 a 5; 9 e 10; e 16 e 17) tiveram respostas diferentes conforme o período de tratamento. Novilhas tratadas no início do ciclo (dias 3 a 4) não apresentam resposta à PGF, enquanto a resposta chegou à 100% quando a PGF foi aplicada nos dias 9 e 10 ou 16 e 17 (HENRICKS *et al.*, 1974). No presente estudo, as novilhas púberes, do grupo controle, tiveram o início do protocolo de IATF em dias aleatórios do ciclo estral, enquanto as novilhas do grupo tratamento estavam em diestro, devido à pré-sincronização.

Além disso, as novilhas pré-púberes do grupo controle, apresentaram elevada porcentagem de novilhas não ciclando no início do protocolo de IATF, quando compara à das pré-púberes do grupo tratamento. A baixa ciclicidade das novilhas pré-púberes controle pode ter levado à diminuição do máximo crescimento folicular, menor manifestação de estro e ovulação.

Ao avaliar a probabilidade de prenhez, foi observado que esta aumentou com o aumento do diâmetro do folículo no D9, sendo que nas novilhas púberes a probabilidade de prenhez foi maior do que nas novilhas pré-púberes, quando os diâmetros foliculares foram maiores que 10 mm. Diversos autores já descreveram a relação positiva entre o diâmetro folicular e a taxa de sincronização e de prenhez (GIMENES *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2008; DIAS *et al.*, 2009). Para novilhas Nelore, foram descritas taxas de sincronização da ovulação e de prenhez de 28,2% e 9,1% para folículo < 8,5 mm, 62,5% e 24% para folículos entre 8,5 e 10 mm, e 92,2% e 52,4% para folículos maiores que 10 mm, respectivamente (DIAS *et al.*, 2009). Resultados similares foram encontrados por Gimenes *et al.* (2008). Para vacas, é necessário um folículo de, pelo menos, 11 mm de diâmetro para alcançar máxima taxa

de ovulação (SÁ FILHO *et al.*, 2010). Além disso, vacas que ovularam folículos pequenos apresentam fertilidade comprometida, pois o diâmetro do folículo dominante está diretamente relacionado ao volume do CL, e este à produção de P4 (VASCONCELOS *et al.*, 2001).

Embora não tenha sido verificado, é provável que a fertilidade das novilhas pré-púberes, com folículos pré-ovulatórios maiores que 10 mm, ou seja, com máxima capacidade ovulatória, seja inferior à das púberes, devido à luteólise prematura ou ciclos irregulares que são observados no primeiro ciclo estral (DEL VECCHIO *et al.*, 1992). Del Vecchio *et al.* (1992), trabalhando com novilhas Holandesas, observaram elevada frequência de ciclos com duração anormal, principalmente durante o primeiro e segundo ciclos. Esses ciclos anormais resultam de estros sem posterior formação de CL, corpos lúteos de curta duração, “ovulações silenciosas” e com baixa concentração de P4 na circulação (<1 ng/ml) no ciclo subsequente.

Para as novilhas que possuíam folículos dominantes até 14 mm de diâmetros no D9, a presença de CL no D0, aumentou a probabilidade de prenhez em comparação às novilhas que não apresentaram CL no D0. Esse efeito deixou de ocorrer nas novilhas com diâmetros foliculares acima de 14 mm, provavelmente isso ocorre pois, nas novilhas com folículos maiores que 14 mm, a probabilidade de prenhez é máxima, assim como reportado por Sá Filho *et al.*, (2010).

Para folículos até 10 mm de diâmetro, houve significativa diferença na probabilidade de prenhez entre novilhas que apresentaram CL no D0 e que não apresentaram. Provavelmente esse fato é consequência da maior porcentagem de novilhas que não responderam ao protocolo devido à ausência de desenvolvimento do sistema reprodutivo. É importante ressaltar que nesse grupo de novilhas, que não apresentaram CL no D0, havia uma pequena porcentagem de novilhas púberes e uma grande porcentagem de novilhas pré-púberes do grupo controle e de pré-púberes tratadas, que não responderam à pré-sincronização. Para as novilhas que não apresentaram CL no D0 e tiveram folículos dominantes de 10 a 14 mm, ocorreu um abrupto aumento na probabilidade de prenhez. Esse fato pode ter ocorrido devido ao aumento na capacidade ovulatória desses folículos (Sá Filho *et al.*, 2010).

A probabilidade de prenhez também foi influenciada pelo EU no D6, sendo que o aumento do EU foi relacionado à maior probabilidade e taxa de prenhez. Em estudo anterior, o uso do ETR, que é uma escala que classifica a novilha conforme o diâmetro e turgidez uterina e diâmetro do folículo dominante, demonstrou que este escore está

altamente relacionado à taxa de prenhez ao final da estação de monta. As taxas de prenhez foram de 40,7%, 48,3%, 57,6% e 64,6% para os escores 2 ou menos, 3, 4 ou 5, respectivamente (GUTIERREZ *et al.*, 2014). Além disso, novilhas com maiores escores uterinos emprenharam mais cedo na estação de monta. Novilhas classificadas com ETR 1, 2 foram consideradas pré-púberes, as ETR 3 foram consideradas peripúberes e as de ETR 4 e 5, púberes (ANDERSON *et al.*, 1991).

8 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo pode-se concluir que:

1. O protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação aumenta a porcentagem de novilhas ciclando após o tratamento.
 - 1.1 Como a ciclicidade foi avaliada pela presença de CL 12 dias após o protocolo de pré-sincronização, pode-se concluir que, para as novilhas pré-púberes o protocolo serviu como um protocolo de indução de puberdade. Além disso, mesmo as novilhas púberes, quando tratadas com protocolo de pré-sincronização com P4 injetável apresentam aumento da porcentagem de CL.
 - 1.2 Para as novilhas pré-púberes, o aumento da porcentagem de novilhas ciclando foi relacionado com o aumento do diâmetro do maior folículo e do EU no D-12, nas tratadas.
2. O protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação tende a aumentar a taxa de prenhez, aumenta a manifestação de estro, 48 h após a retirada do dispositivo e a ovulação antecipada, após protocolo de IATF J-Synch adaptado.
 - 2.1 A taxa de prenhez foi relacionada com a manifestação de estro, com 48 h após a retirada do dispositivo e presença de CL no D0.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. O protocolo de pré-sincronização com P4 injetável de longa ação foi eficiente em aumentar o número de novilhas ciclando doze dias após o tratamento, tanto nas novilhas púberes quanto nas pré-púberes. O protocolo de pré-sincronização com P4 também tendeu a aumentar a taxa de prenhez após protocolo de IATF.
2. Devido ao elevado número de novilhas que manifestaram cio com 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 e ovularam antes do momento da IATF, o protocolo J-Synch adaptado não deve ser utilizado sem observação de estro.

REFERÊNCIAS

ABIEC. **Perfil da Pecuária no Brasil. Relatório Anual 2017**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/>>. Acesso em 28 de janeiro de 2018.

ABUD, L. J. **Idade, peso, morfometria corporal e prenhez em novilhas Nelore dos 16 aos 32 meses**. 2010. 39 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

ALENCAR, M. M.; COSTA, J. L.; CORRÊA, L. A. Desempenho produtivo de fêmeas das raças Canchim e Nelore. I. Desenvolvimento e Puberdade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, n.7, p. 753-758, 1987.

AMSTALDEN, M; GARCIA, M.R.; WILLIAMS, R.L., STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, G.L. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin like-growth factor I. **Biology of Reproduction**, v. 63, p.127-33, 2000.

ANDERSON, K. J.; LEFEVER, D. G.; BRINKS, J. S.; ODDE, K. G. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. **Agri-Practice**, v. 12, n. 4, p. 19-26, 1991.

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.

AZAMBUJA, P. S. **Sistemas alimentares para o acasalamento de novilhas aos 14/15 meses de idade**. 2003. 208 p. Dissertação (Mestrado em zootecnia). UFRGS, Porto Alegre, 2003.

BAKER, J.F., STEWART, T.S.; LONG, C.R.; CARTWRIGHT T.C. Multiple regression and principal components analysis of puberty and growth in cattle. **Journal of Animal Science**, v.66, p.2147–2158, 1988.

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

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.

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

BERTAN, C. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H. Caracterização do estro de novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) por radiotelemetria. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 6, p. 816-823, 2006.

BONAFOS, L. D.; KOT, K.; GINTHER, O. J. Physical characteristics of the uterus during the bovine estrous cycle and early pregnancy. **Theriogenology**, v.43, p.713-721, 1995.

BRANN, D. W.; MAHESH, V. B. Glutamate: a major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 53, p. 325-329, 1995.

BRIDGES, G. A.; HELSER, L. A.; GRUM, D. E.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; DAY, M. L. Decreasing the interval between GnRH and PGF2a from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology**, v. 69, p.843–851, 2008.

BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M.L.; BURKE, C. R.; DAY, M. L. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 117, p. 208–215, 2010.

BURKE, J. M.; DE LA SOTA, R. L.; RISCO, C. A.; STAPLES, C. R.; SCHMITT, E. J. P.; THATCHER, W. W. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1385–1393, 1996.

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

- BYERLEY, D. J.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J. G.; SHORT, R. E. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 645-650, 1987.
- CABRAL, J. F.; LEÃO, K. M.; SILVA, M. A. P.; BRASIL, R. B. Indução do estro em novilhas Nelore com implante intravaginal de progesterona de quarto uso. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 49-53, 2013.
- CARBONE, S.; PONZO, O.; SZWARCFARB, B.; RONDINA, D.; REYNOSO, R.; SCACCHI, P.; MOGUILEVSKY, J. A. Ontogenic modifications in the effect of the GABAergic system on the hypothalamic excitatory amino acids: its relationship with GABAergic control of gonadotrophin secretion during sexual maturation in female rats. **Developmental Brain Research**, v. 133, p. 13-18, 2002.
- CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v. 10, p. 59-67, 2007.
- CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Participação do sistema adrenérgico na secreção de LH, em novilhas nelores pré-púberes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, p. 839-847, 2008.
- CARVALHO, J. B. P., CARVALHO, N. A. T., REIS, E. L.; NICHI, M.; SOARES, J. G.; BARUSELLI, P. S. Efeito da prostaglandina F2 α no início do protocolo de sincronização da ovulação em novilhas leiteiras *Bos indicus*, *Bos taurus* E *Bos indicus* x *Bos taurus*. **Boletim de Indústria Animal**, v.74, n.2, p.122-134, 2017.
- CARVALHO, J. B.; CARVALHO, N. A.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-75, 2008.
- CHRISTIAN, R. E.; CASIDA, L. E. The effects of progesterone in altering the estrous cycle of the cow. **Journal of Animal Science**, v.7, p.540, 1948.
- 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.

DAHLEN, C. R.; LAMB, G. C.; ZEHNDER, C. M.; MILLER, L. R.; DICOSTANZO, A. Fixed-time insemination in peripuberal, light weight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2alpha and GnRH. **Theriogenology**, v.59, n.8, p.1827-1837, 2003.

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

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

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

DE LA MATA J. J.; BÓ G. A. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos con benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. **Taurus**, v. 55, p. 17-23, 2014.

DE LA MATA, J.J.; DE LA MATA, C.A.; BÓ G.A. Características foliculares y luteales y tasa de preñez em receptoras de embriones sincronizadas con un protocolo J-Synch 6D. In: X Simposio Internacional de Reproduccion Animal, 376, Córdoba, 2013. **Comunicaciones cortas...Córdoba: IRAC, 2013 (a).**

DE LA MATA, J.J.; DE LA MATA, C.A.; BÓ G.A. Evaluación del grado de despintado em la base de la cola sobre la tasa de preñez en vaquillonas Angus sincronizadas con un protocolo de IATF. In: X Simposio Internacional de Reproduccion Animal, 308., Córdoba, 2013. **Comunicaciones cortas...Córdoba: IRAC, 2013 (b).**

DEL VECCHIO, R. P.; NEUENDORFF, D. A.; STAHRINGER, R. C.; RANDEL, R. D. Concentration of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2a, estradiol 17b and progesterone during the peripubertal period in heifers. **Theriogenology**, v.38, n.3, p.419-429, 1992.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and

timing of prostaglandin F2a treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v.72, p.378–385, 2009.

DOCKE, F.; ROHDE, W.; GERBER, P.; KREUZ, G. Medial preoptic area estrogen and the peripubertal desensitization to the negative estrogen feedback in female rats. **Neuroendocrinology**, v. 39, p. 74-80, 1984.

ELER, J. P.; SANTANA JÚNIOR, M. L., FERRAZ, J. B. S. Seleção para precocidade sexual e produtividade da fêmea em bovinos de corte. **Estudos, Goiânia**, v. 37, n. 9/10, p. 699-711, 2010.

FERRELL, C. L. Effects of post-weaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. **Journal of Animal Science**, v. 55, p. 1272 – 1283, 1982.

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

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 gene and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2158-2167, 2002.

GEARY, T. W.; WHITTIER, J. C. Effects of a Timed Insemination Following Synchronization of Ovulation Using the Ovsynch or CO-Synch Protocol in Beef Cows. **The Professional Animal Science**, v,14, p. 217-220, 1998.

GEARY, T. W.; WHITTIER, J. C.; HALLFORD, D. M.; MACNEIL, M. D. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. **Journal of Animal Science**, v. 79, p.1–4, 2001.

GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES-JÚNIOR, 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.

GONZALEZ-PADILLA, E., NISWENDER, G. D., WILTBANK, J. N. Puberty in beef heifers. II. Effects of injections of progesterone and estradiol-17 β on serum

LH, FSH and ovarian activity. **Journal of Animal Science**, v.40, p.1105-1109, 1975.

GOTTSCHALL, C. S.; FERREIRA, E. T.; MÁRQUES, P.R.; ROSA, A. A. G.; TANURE, S.; LOURENZEN, G.; VIERO, V. Desempenho reprodutivo de novilhas conforme o peso e a idade ao primeiro acasalamento. **Veterinária em Foco**, v.2, n.2, p.211-220, 2005.

GRESSLER, S. L.; BERGMANN, J. A. G.; PEREIRA, C. S.; PENNA, V. M.; PEREIRA, J. C. C.; GRESSLER, M. G. M. Estudo das Associações Genéticas entre Perímetro Escrotal e Características Reprodutivas de Fêmeas Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.2, p.427-437, 2000.

GUTIERREZ, K.; KASIMANICKAM, R.; TIBARY, A.; GAY, J. M.; KASTELIC, J. P.; HALL, J. B.; WHITTIER, W. D. Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural service. **Theriogenology**, v.81, p.918–924, 2014.

HALL, J. B.; STAIGMILLER, R. B.; SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; MACNEIL, M. D.; BELLOWS, S. E. Effect of Age and Pattern of Gain on Induction of Puberty with a Progestin in Beef Heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1606–1611, 1997.

HENRICKS, D. M.; LONG, J. T.; HILL, J. R.; DICKEY, J. F. The effect of prostaglandina F2a during various stages of the oestrous cycle of beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.41, p.113-120, 1974.

HILLEGASS, J.; LIMA, F.S.; SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P. Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.11, p. 4226-4237, 2008.

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

HONARAMOOZ, CHANDOLIA, R. K.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, N. C. Opioidergic, dopaminergic and adrenergic regulation of LH secretion in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 119, p. 207–215, 2000.

HUGENTOBLE, S. A.; SREENAN, J. M.; HUMPHERSON, P. G.; LEESE, H. J.; DISKIN, M. G.; MORRIS, D.G. Effects of changes in the concentration of systemic progesterone on ions, amino acids and energy substrates in cattle oviduct and uterine fluid and blood. **Animal Reproduction Science**, v. 22, p. 684–694, 2010.

IMWALLE, D. B.; PATTERSON, D. J.; SCHILLO, K. K. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing. **Biology of Reproduction**, v.58, p.1432-1436, 1998.

JOHNSON, M.L.; REDMER, D.A.; REYNOLDS, L.P. Effects of ovarian steroids on uterine growth, morphology, and cell proliferation in ovariectomized, steroid-treated ewes. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 588-596, 1997.

KOURY FILHO, W.; ALBUQUERQUE, L. G. DE; ALENCAR, M. M. DE; FORNI, S.; SILVA, J. A. I. DE V.; LÔBO, R. B. Estimativas de herdabilidade e correlações para escores visuais, peso e altura ao sobreano em rebanhos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2362–2367, 2009.

LEMES, K. M. **Comparação da eficiência de diferentes formulações à base de progesterona para indução da puberdade e desempenho reprodutivo em novilhas da raça Nelore**. Pirassununga, 2017. 79 p. Tese, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga - Pirassununga, 2017.

LIMA, R. S.; LEMES, K. M.; MARTINS, T.; MADUREIRA, E. H. Efeito da progesterona injetável de longa ação sobre a indução de puberdade e taxa de prenhez de novilhas Nelore submetidas a IATF. In: XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 80., Cabo de Santo Agostinho, 2017. **Anais...** Cabo de Santo Agostinho: SBTE, 2017.

MACHADO, R.; CORRÊA, R.F.; BARBOSA, R.T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. São Carlos: **EMBRAPA**, 2008. 16p. (Circular Técnica, 57).

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

MALHADO, C. H. M.; MALHADO, A. C. M.; MARTINS FILHO, R.; CARNEIRO, P. L. S.; PALA, A.; ADRIÁN CARRILLO, J. Age at first calving of Nellore cattle

in the semi-arid region of northeastern Brazil using linear, threshold, censored and penalty models. **Livestock science**, v. 154, n. 1-3, p. 28–33, 2013.

MANTOVANI, A. P.; NICHI, M.; SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; VETTORATO, L. F.; BO, G. A.; BARUSELLI, P. S. Follicular growth and plasma progesterone patterns in *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers submitted to different PGF2 α /progesterone-based synchronization protocols. **Animal Reproduction Science**, v.7, n.2, p.91-96, 2010.

MARTIN, L. C.; BRFNKST, J. S.; BOURDONT, R. M.; CUNDIFF, L. V. Genetic Effects on Beef Heifer Puberty and Subsequent Reproduction. **Journal Animal Science**, v.70, p. 4006-4017, 1992.

MARTINS, J. H.; SANTOS, C. S.; SILVA, M. A. V.; AGUIAR, H. M. V. S. B.; FRANÇA, I. G.; PEREIRA, H. G.; RIBEIRO, D. L.; CHAVES, R. M.; SOUZA, J. A. T.; MONTEIRO, B. M.; SÁ FILHO, M. F.; TORRES- JÚNIOR, J. R. S. Impact of puberty status and melengestrol acetate supplementation before the breeding period on reproductive efficiency of *Bos indicus* beef heifers. **Journal Animal Science**, v.93, p.2796–2805, 2015.

MENCHACA, A.; NUÑEZ-OLIVERA, R.; CUADRO, F.; BO, G.A. Pregnancy rates in beef heifers synchronized with a shortened oestradiol-based treatment that provides for a prolonged proestrus. **Reproduction, Fertility and Development**, v.27, p.96-96, 2015.

MEYER, S. L.; GOODMAN, R. L. Neurotransmitter involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anestrus ewes: effects of receptor antagonist. **Endocrinology**, v. 116, p. 2054-2061, 1985.

MIZUTA K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. São Paulo, 2003. 98 p. Tese, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MOTTA, J.C. L., COLLI, M.H.A.; PENTEADO, L.; BAYEUX, B.M.; MINGOTI, R.D.; BO, G.A.; LUGO, L.C.; REZENDE, R.G.; BARUSELLI, P.S. Pregnancy rate to FTAI in Nelore and crossbreed heifers submitted to J-Synch protocol (6 days). **Animal Reproduction Science**, v.13, n.3, p.401, 2016.

MULLEN, MICHAEL P.; ELIA, G.; HILLIARD, M.; PARR, M. H.; DISKIN, M. G.; EVANS, A. C. O.; CROWE, M. A. Proteomic characterization of histotroph during the preimplantation phase of the estrous cycle in cattle. **Journal of Proteome Research**, v.11, p.3004-3018, 2012.

MURRAY, M. K. The effect of estrogen and progesterone on structural changes in the uterine glandular epithelium of the ovariectomized sheep. **Biology of Reproduction**, v. 47, p. 408-417, 1992.

NAGATANI, S.; ZENG, Y.; KEISLER, D. K.; FOSTER, D. L.; JAFFE, C. A. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. **The Endocrine Society**, v.141, n.11, p. 3965-3975, 2000.

NETO, A. R. F.; ZANATTA, G. M.; FERNANDO, D.; FREITAS, B. G.; BASTOS, M. R.; GUERREIRO, B. M.; MASSARI, P. J.; MELO, G. D.; MINGOTI, R. D.; BARUSELLI, P. S. Dosagem de progesterona com o Sincrogest Injetável® na indução de ciclicidade. In: XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 85., Cabo de Santo Agostinho, 2017. **Anais...** Cabo de Santo Agostinho: SBTE, 2017.

NOGUEIRA, G. P. Puberdade e maturidade sexual em novilhas *Bos indicus*. Biotecnologia da reprodução em bovinos. In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, p. 180-190, Londrina, 2004. **Anais...** Londrina: SIRAA, 2004.

NORTHCUTT, S. L.; WILSON, D. E.; WILLHAM, R. L. Adjusting Weight for Body Condition Score in Angus Cows. **Journal Animal Science**, v. 70, p.1342-1345, 1992.

OJEDA, S. R.; NEGRO-VILAR, A; MCCANN, S. M. Evidence for involvement of α -adrenergic receptors in norepinephrine-induced prostaglandin E₂ and luteinizing hormone-releasing hormone release from the median eminence. **Endocrinology**, v. 110, p. 409-412, 1982.

OLIVEIRA, P. S.; BONIN, M. N.; FERRAZ, J. B. S. **Saiba como fazer um hipômetro de baixo custo para medidas morfológicas de animais de produção**. 2012. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/saiba-como-fazer-um-hipometro-de-baixo-custo-para-medidas-morfologicas-de-animais-de-producao/>>. Acesso em: 27 de abril de 2017.

PATTERSON, D. J.; CORAH, L. R. Evaluation of melengestrol acetate and prostaglandin F2 alpha system for the synchronization of estrus in beef heifers. **Theriogenology**, v.38, n.3, p.441-448, 1992.

PATTERSON, D. J.; CORAH, L. R.; BRETHOUR, J. R. Response of prepubertal Bos taurus and Bos indicus X Bos taurus heifers to melengestrol acetate with or without gonadotropin-releasing hormone. **Theriogenology**, v.33, n.3, p.661-668, 1990.

PEGORER, M. F. **Taxas de ovulação e prenhez em novilhas Nelore cíclicas após utilização de protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com diferentes concentrações de progesterona, associadas ou não a aplicação de eCG**. Botucatu, 2009. 89 p. Tese, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

PEREIRA, E.; ELER J. P.; FERRAZ, J. B. S. Análise genética de algumas características reprodutivas e suas relações com o desempenho ponderal na raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.720-727, 2001

PEREIRA, E.; ELER J. P.; FERRAZ, J. B. S. Análise genética de características reprodutivas na raça Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 703-708, 2002.

PERES, R. F. G.; CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O.G.; NOGUEIRA, G.P.; VASCONCELOS, J.L.M. Strategies to improve fertility in Bos indicus postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 72, p.681–689, 2009.

PURSLEY, J. R., WILTBANK, M. C.; STEVENSON, J. S.; OTTOBRE, J. S.; GARVERICK, H. A.; ANDERSON, L. L. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.295–300, 1997.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, D M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p.915–923, 1995.

RABAGLINO, M. B.; RISCO, C. A.; THATCHER, M. J.; KIM, I. H.; SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W. Application of one injection of prostaglandin F2 α in the five-day Co-Synch + CIDR protocol for estrous synchronization and

resynchronization of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1050–1058, 2010.

RADCLIFF, R. P.; VANDEHAAR, M. J.; SKIDMORE, A. L.; CHAPIN, L. T.; RADKE, B. R.; LLOYD, J. W.; STANISIEWSKI, E. P.; TUCKER, H. A. Effects of Diet and Bovine somatotropin on Heifer Growth and Mammary Development. **Journal of Dairy Science**, v.80, p. 1996–2003, 1997.

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, n.1, p.55-64, 1998.

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

RESTLE, J.; POLLI, V. A.; DE SENNA, D. B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.4, p. 701-707, 1999.

ROCHA, M. G.; LOBATO, J. F. P. Avaliação do desempenho reprodutivo de novilhas de corte primíparas aos dois anos de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1388-1395, 2002.

RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 79, p. 135–141, 2013.

SÁ FILHO, M. F.; BALDRIGHI, J. M.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; CARVALHO, J. B. P.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 129, n. 3-4, p. 132–9, 2011.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.P.; PERRY, G.A.; BARUSELLI, P.S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous

synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v.120, p. 23–30, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MEDALHA, A. G.; BARUSELLI, P. S. IATF em novilha. Biotecnologia da reprodução de bovinos. In: 3º Simpósio internacional de reprodução animal aplicada, 54-67., Londrina, 2008. **Anais...** Londrina: SIRAA, 2008.

SÁ FILHO, M. F.; NASSER, L. F. T.; PENTEADO, L.; PRESTES, R.; MARQUES, M. O.; FREITAS, B.G.; MONTEIRO, B. M.; FERREIRA, R.M.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P.S. Impact of progesterone and estradiol treatment before the onset of the breeding period on reproductive performance of *Bos indicus* beef heifer. **Animal Reproduction Science**, v.160, p. 30–39, 2015.

SALMAN, A. K. D.; RAPHAEL, B. C.; FERNANDA, G. P. Gene da Leptina em Ruminantes. REDVET. **Revista eletrônica de Veterinária**, v.8, n.12, 2007.

SANTIAGO, A.A. **O Nelore**. São Paulo: Editora dos criadores, 1983. 583p.

SANTOS, J. E. P.; SA FILHO, M. F. Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologias da Reprodução em Bovinos. In: 2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina, 2006. **Anais...**Londrina: SIRAA, 2006.

SCOT CONSULTORIA. **Taxa de desfrute**. 2012. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/23681/taxa-de-desfrute.htm>> Acesso em 07 de novembro de 2017.

SCOTT, C. J.; CLARKE, B. J. Evidence that changes in the function of the subtypes of the receptors for gamma-amino butyric acid may be involved in the seasonal changes in the negative-feedback effects of estrogen on gonadotropin-releasing hormone secretion and plasma luteinizing hormone levels in the ewe. **Endocrinology**, v. 133, p. 2904–2912, 1993.

SEMMELMANN, C. E. N.; LOBATO, J. F. P.; ROCHA, M. G. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 835-843, 2001.

SHAMAY, A.; WERNER, D.; MOALLEM, U.; BARASH, H.; BRUCKENTAL, I. Effect of Nursing Management and Skeletal Size at Weaning on Puberty,

Skeletal Growth Rate, and Milk Production During First Lactation of Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.1460–1469, 2005.

SILVA, J. A. I. V.; DIAS, L. T.; ALBUQUERQUE, L. G. DE. Estudo genético da precocidade sexual de novilhas em um rebanho Nelore. **Revista brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1568–1572, 2005.

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

STOCK, A. E., FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v. 132, p. 1108-1114, 1993.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUENTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, p.307-314, 2001.

WALKER, W. L.; NEBEL, R. L.; MCGILLIARD, M.L. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.9, p. 1555-1561, 1996.

WATHES, D. C.; LAMMING, G. E. The oxytocin receptor, luteolysis and the maintenance of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility** Supplement, v.49, p. 53-67, 1995.

WHISNANT, C. S.; BURNS, P. J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. **Theriogenology**, v.58, n.6, p.1229-1236, 2002.

WILLIAMS, G. L.; AMSTALDEN, M.; GARCIA, M. R.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.339-49, 2002.

WILTBANK, J. N.; KASSON, C. W. Synchronization of Estrus in Cattle with an Oral Progestational Agent and an Injection of an Estrogen. **Journal of Animal Science**, v. 27, n. 1, p. 113-116, 1968.

WITHYCOMBE, R; POTTER, E. L.; EDWARDS, F. M. Deferred breeding of beef cows. **Oregon Agricultural Experimental Station Bull**, v.271, p.1-18, 1930.

WOLFE, M. W.; ROBERSON, M. S.; STUMPF, T. T.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Modulation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in circulation by interactions between endogenous opioids and estradiol during the peripubertal period of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 96, p. 165-174, 1992.

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

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

ZOLLERS, W. G. Concentration of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **Journal of Reproduction Fertility**, v.97, p.329-337, 1993.