MARCOS VINICIUS DE CASTRO FERRAZ JUNIOR

Puberdade de novilhas: 1- Efeito da nutrição e da DEP do touro para precocidade sexual na puberdade de novilhas Nelore; 2 - Efeito da desmama precoce e da nutrição no *imprinting* metabólico sobre a puberdade de novilhas Nelore e cruzadas (Angus x Nelore)

Pirassununga

2016

MARCOS VINICIUS DE CASTRO FERRAZ JUNIOR

Puberdade de novilhas: 1- Efeito da nutrição e da DEP do touro para precocidade sexual na puberdade de novilhas Nelore; 2 - Efeito da desmama precoce e da nutrição no *imprinting* metabólico sobre a puberdade de novilhas Nelore e cruzadas (Angus x Nelore)

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

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires

De acordo: _____

Orientador (a)

Pirassununga

2016

Obs.: a versão original se encontra disponível na biblioteca da FMVZ/USP

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T.3345
FMVZ

Ferraz Junior, Marcos Vinicius de Castro

Puberdade de novilhas: 1- Efeito da nutrição e da DEP do touro para precocidade sexual na puberdade de novilhas Nelore; 2 - Efeito da desmama precoce e da nutrição no *imprinting* metabólico sobre a puberdade de novilhas Nelore e cruzadas (Angus x Nelore) / Marcos Vinicius de Castro Ferraz Junior. -- 2016.
96 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires.

1. Nelore. 2. Puberdade. 3. Genética. 4. Nutrição. 5. *Imprinting* metabólico. 6. Desmama precoce. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito da nutrição na puberdade de novilhas Nelore", protocolado sob o CEUA nº 7595290414, sob a responsabilidade de **Alexandre Vaz Pires e equipe; Marcos Vinicius de Castro Ferraz Junior** - 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) - encontra-se 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, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMZV) em reunião de 08/04/2015.

We certify that the proposal "Effect of nutrition on puberty in Nelore heifers", utilizing 140 Bovines (140 females), protocol number CEUA 7595290414, under the responsibility of **Alexandre Vaz Pires and team; Marcos Vinicius de Castro Ferraz Junior** - 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) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, 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 University of São Paulo (CEUA/FMZV) in the meeting of 04/08/2015.

Vigência da Proposta: de 06/2014 a 06/2017

Área: Nutrição E Produção Animal

Procedência: Não aplicável biotério

Espécie: Bovinos

sexo: Fêmeas

idade: 3 - 12 meses

N: 140

Linhagem: Nelore

Peso: 100 - 400 Kg

Resumo: Experimento I - O objetivo deste experimento é avaliar a interação entre dois ritmos do crescimento (300 e 700 g/dia) e DEP's (positiva e negativa para precocidade sexual) com a idade à puberdade de novilhas Nelore. Serão utilizadas 56 novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) desmamadas com 7 meses de idade, oriundas de FIV (fertilização em vitro), filhas de 4 touros (2 com DEP positiva e 2 com DEP negativa para precocidade sexual (IPP idade ao primeiro parto), segundo o sumário de touros Nelore da ABCZ de 2012). Essas novilhas serão divididas em dois grupos, um com alto ganho médio diário (GMD) (700 g/animal/dia n = 28 novilhas) e outro com baixo GMD (300 g/animal/dia n = 28 novilhas). Formado um esquema em fatorial 2x2, no qual o fator 1 é a DEP do touro e o fator 2 é GMD, constituindo assim quatro tratamentos DEP Alta e GMD Alto (DAGA), DEP Alta GMD Baixo (DAGB), DEP Baixa GMD Alto (DBGA), DEP Baixa GMD Baixo (DBGB). Uma vez por semana, as novilhas passaram por US e coleta de sangue para avaliar a puberdade. Uma vez por mês, as novilhas com mais de 230 kg de peso corporal passaram por US de 2 em 2 dias de modo a caracterizar a onda de desenvolvimento folicular. Será utilizado um delineamento em blocos casualizados (o qual será considerado as mães das novilhas como bloco), em esquema fatorial 2x2. As variáveis contínuas serão analisadas pelo procedimento MIXED e as variáveis com distribuição binomial serão analisadas pelo procedimento GLIMMIX (SAS 9.3). Experimento II - O objetivo deste experimento é avaliar a interação entre dois ritmos do crescimento (600 e 1200 g/dia) em dois períodos da vida da novilha (desmama precoce - dos 3 até os 7 meses e pós desmama - dos 7 até 14 meses) com a idade à puberdade de novilhas Nelore. Serão utilizadas 40 bezerras da raça Nelore e 40 bezerras cruzadas NeloreXAngus desmamadas com 3 meses de idade. Essas bezerras serão divididas em dois grupos, um com alto ganho médio diário (GMD) (1200 g/animal/dia n = 20 Nelore e 20 NeloreXAngus) e outro com médio GMD (600 g/animal/dia n = 20 Nelore e 20 NeloreXAngus). Formado um esquema em fatorial 2x2 para a raça Nelore e outro para as bezerras cruzadas (NeloreXAngus), no qual o fator 1 é GMD dos 3 aos 7 meses de idade e o fator 2 é o GMD dos 7 meses de idade até a puberdade, constituindo assim quatro tratamentos, alto GMD dos 3 meses de idade até a puberdade (A3-P), alto GMD dos 3 até os 7 meses de idade e médio GMD dos 7 meses de idade até a puberdade (A3-7), médio GMD dos 3 meses de idade até a puberdade (M3-P) e médio GMD dos 3 até os 7 meses de idade e alto GMD dos 7 meses de idade até a puberdade (M3-7) para as bezerras Nelore e para as cruzadas. Uma vez por semana, as novilhas passaram por US e coleta de sangue para avaliar a puberdade. Uma vez por mês, as novilhas com mais de 230 kg de peso corporal passaram por US de 2 em 2 dias de modo a caracterizar a onda de desenvolvimento folicular. De 2 em 2 meses, a partir dos 6,5 meses de idade, 5 animais por tratamento passaram por coleta de sangue de 15 em 15 min por 12 h para avaliar o perfil de LH. Será utilizado um delineamento em blocos casualizados (o qual será considerado as mães das novilhas como bloco), em esquema fatorial 2x2. As variáveis contínuas serão analisadas pelo procedimento MIXED e as variáveis com distribuição binomial serão analisadas pelo procedimento GLIMMIX (SAS 9.3).

São Paulo, 22 de março de 2016

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Comissão de Ética no Uso de Animais

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FERRAZ JUNIOR, Marcos Vinicius de Castro

Título: **Puberdade de novilhas:** 1- Efeito da nutrição e da DEP do touro para precocidade sexual na puberdade de novilhas Nelore; 2 - Efeito da desmama precoce e da nutrição no *imprinting* metabólico sobre a puberdade de novilhas Nelore e cruzadas (Angus x Nelore)

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

DATA: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Aos meus pais dedico essa conquista, produto de meus labores, constância, vigílias e dedicação, cujo início foi ensinado por eles.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por guiar minha consciência e entendimento, de modo que eu possa progredir na minha existência e por poder contar com diversas mãos que fizeram possível esse trabalho. Para elas tenho lágrimas de gratidão!

Aos meus pais, espero um dia retribuir tudo o que fazem por mim.

Ao meu irmão Matheus, amizade e simpatia.

Aos meus Avós e à minha Madrinha, respeito, amizade e gratidão.

À Márcia, desejo-lhe um futuro de flores.

Ao Prof. Dr. João Bosco Barreto Filho, obrigado por me iniciar na pesquisa e pela amizade.

Na vida tenho vários mestres. Dentre eles, o Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires tem o meu extremo respeito, gratidão e estima.

À Prof. Dr^a. Ivanete Susin, um voto de simpatia, respeito e gratidão.

Aos amigos do LNRA, onde se encontra a maior parte das mãos que contribuíram para esse trabalho, Marcelo, Angelo, Marcão, Renan, Alexandre, Daniel, Gabriela, Analisa, Elizangela, Vinícius e José obrigado e desejo-lhes sorte.

Aos estagiários Mari, Adriana, João, Saladinha, Pará (*in memoria*), Samuel, Ramon, Camila, Edvin, Murilo e Ruan pelo trabalho e dedicação.

Ao Danilo, Adilso, Joseval, Marcos, Roberto, gratidão e amizade.

À FEALQ e a Estação Experimental Agrozootécnica *Hildegard Georgina Von Pritzelwiltz*, (Fazenda Figueira), obrigado.

À FAPESP (processo 2013/09921-1), obrigado pela bolsa de estudo.

À FAPESP pelo financiamento do projeto processo 2014/14136-4.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ-USP) e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), pela oportunidade da participação no curso de Doutorado.

Enfim, a todos que direta e/ou indiretamente auxiliaram na condução e elaboração deste trabalho.

Meu muito obrigado!

Epígrafe

“E conhecereis a verdade e a verdade vos libertará”.

Jesus Cristo

RESUMO

FERRAZ JUNIOR, M. V. C. **Puberdade de novilhas:** 1- Efeito da nutrição e da DEP do touro para precocidade sexual na puberdade de novilhas Nelore; 2 - Efeito da desmama precoce e da nutrição no *imprinting* metabólico sobre a puberdade de novilhas Nelore e cruzadas (Angus x Nelore). [Puberty of heifers: 1 - Effect of nutrition and EPD of sire for sexual precocity on puberty in Nelore heifers; 2 - Effect of early weaning and nutrition in metabolic imprinting on puberty in Nelore and crossbreed (Angus x Nelore) heifers]. 2016. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

O objetivo do experimento I foi avaliar a interação entre dois ganhos médios diários [GMD - fator nutricional (ganho elevado GA = 0,700 e ganho baixo GB = 0,300 Kg/dia)] e a diferença esperada da progênie (DEP para idade ao primeiro parto - fator genético) na puberdade de novilhas Nelore. Foram utilizadas 58 novilhas desmamadas com 8 meses de idade, filhas de 4 touros [2 precoces (P) e 2 tardios (T)], formando um esquema fatorial 2 x 2, no qual o fator 1 foi o GMD e o fator 2 foi a DEP do touro, constituindo assim quatro tratamentos: Touro precoce com GMD elevado (PGA), touro precoce com GMD baixo (PGB), touro tardio com GMD elevado (TGA), touro tardio com GMD baixo (TGB). Houve efeito dos tratamentos na porcentagem de novilhas púberes durante o experimento (PGA e PGB = 100%; TGA = 83% até 27 meses de idade; TGB = 38% até 3 anos de idade). As novilhas do PGA apresentaram a menor ($P = 0,0001$) idade na puberdade (18 ± 1 meses). Contudo, a nutrição atrasou a puberdade em cerca de 10 meses nas novilhas filhas de touros precoces e tardios (PGA = 18 ± 1 vs. PGB = 29 ± 1 meses; TGA = 24 ± 1 vs. TGB = 34 ± 1 meses). Assim podemos concluir que a DEP para IPP foi o fator necessário para o adiantamento da idade a puberdade. No entanto, o GMD foi um fator limitante para o aparecimento da puberdade. O objetivo do experimento II foi avaliar o efeito do *imprinting* metabólico dos 3 aos 7 meses de idade na puberdade em novilhas cruzadas (Angus x Nelore). Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, no qual o fator 1 foi GMD elevado e médio dos 3 aos 7 meses de idade (fase 1) e o fator 2 foi GMD elevado e médio dos 7 meses de idade até a puberdade (fase 2). Formando os seguintes tratamentos: CAA – Novilhas cruzadas submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2; CAM - GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2; CMA- GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2;

CMM – GMD médio nas fases 1 e 2. O GMD médio foi atingido pela restrição do consumo de matéria seca (CMS) no GMD médio. As novilhas dos tratamentos CAA, CAM e CMA apresentaram puberdade na mesma idade (cerca de 12 meses). As novilhas cruzadas submetidas ao GMD elevado na fase 2 foram mais pesadas ($P = 0,0379$) na puberdade do que novilhas submetidas ao baixo GMD. O GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade não impactou na puberdade das novilhas cruzadas. O objetivo e a metodologia do experimento III foram semelhantes ao experimento II, no entanto foram utilizadas novilhas Nelore (N) ao invés de cruzadas e o experimento terminou aos 19 meses de idade. O tratamento NAA (84%) induziu maior ($P = 0,0145$) proporção de novilhas púberes do que o NMM (23%), mas não houve diferença na taxa de puberdade entre os tratamentos NAM (60%) e NMA (50%). Além disso, o comportamento das curvas de puberdade dos tratamentos NAM e NMA foram semelhantes, sendo assim não houve efeito de *imprinting* metabólico nas novilhas Nelore. O GMD elevado dos 3 aos 19 meses idade aumentou a porcentagem de novilhas Nelore púberes aos 19 meses de idade.

Palavras-chave: Nelore. Puberdade. Genética. Nutrição. *Imprinting* metabólico. Desmama precoce.

ABSTRACT

FERRAZ JUNIOR, M. V. C. **Puberty of heifers:** 1 - Effect of nutrition and EPD of sire for sexual precocity on puberty in Nellore heifers; 2 - Effect of early weaning and nutrition in metabolic imprinting on puberty in Nellore and crossbreed (Angus x Nellore) heifers. [Puberdade de novilhas: 1- Efeito da nutrição e da DEP do touro para precocidade sexual na puberdade de novilhas Nelore; 2 - Efeito da desmama precoce e da nutrição no *imprinting* metabólico sobre a puberdade de novilhas Nelore e cruzadas (Angus x Nelore)]. 2016. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

The objective of experiment I was to evaluate the interaction between two average daily gain (ADG – nutritional factor (high gain HG = 0,700 and low gain LG = 0,300 kg/day)) and expected progeny differences (EPD to age at first calving; genetic factor) on puberty attainment of Nellore heifers. Fifth eight heifers weaned at 8 months of age and daughters of 4 sires [2 precocious (P) and 2 later (L)]. A factorial design 2 x 2 was used, where the factor 1 was the ADG and the factor 2 was the EPD of sire, resulting in four treatments: Precocious sire with HG (PHG), precocious sire with LG (PLG), later sire with HG (LHG) and later sire with LG (LLG). There was effect of treatment in the percentage of pubertal heifers (PHG and PLG = 100%; LHG = 83% until 27 month of age; LLG = 38% until 3 years old). Heifers from the PHG treatment were the youngest ($P = 0,0001$) (18 months of age). However, the nutritional factor delayed puberty achievement by approximately 10 months the age at puberty in precocious and later heifers (PHG = 18 ± 1 vs. PLG = 29 ± 1 months; LHG = 24 ± 1 vs. LLG = 34 ± 1 months of age). The EPD to age at first calving was the main factor affecting the age at puberty. However, the ADG was limiting to puberty onset. The objective of experiment II was to evaluate the effect of metabolic *imprinting* from 3 to 7 months of age on puberty attainment of crossbreed heifers (Angus x Nellore). The treatments were arranged in 2 x 2 factorial design, where the factor 1 was high (H) and medium (M) ADG from 3 to 7 months of age (phase 1) and the factor 2 was high and medium ADG from 7 months of age to puberty onset (phase 2), resulting in the following treatments: CHH – crossbreed heifers submitted to high ADG in both phases of experiment; CHM – high ADG in phase 1 and medium ADG in phase 2; CMH – medium ADG in phase 1 and high ADG in phase 2; CMM – Medium ADG in both phases. The medium ADG were targeted by restricting of dry

mater intake (DMI) in medium ADG. Crossbreed heifers of treatments CHH, CHM, CMH showed the same age at puberty, about 12 months. Heifers submitted to high ADG on phase 2 were heavier ($P = 0,0379$) at puberty than heifers submitted to low ADG. The high ADG from 3 to 7 months did not affect puberty onset in crossbreed heifers. The objective and methodology used in experiment III was the same of used in experiment II. However, Nellore heifers (N) were used instead of crossbreed heifers and the experimental period ended at 19 months of age. The NHH treatment (84%) induced higher ($P = 0,0145$) percentage of pubertal heifers than NMM (23%), but there was not difference in puberty rate between NHM (60%) and NMH (50%) treatments. Furthermore, the comportment of curves of puberty of treatments NHM and NMH were similar, thus there was not effect of metabolic imprinting in Nellore heifers. The high ADG from 3 to 19 months of age increased the percentage of pubertal Nellore heifers at 19 months of age.

Keywords: Nellore. Puberty. Genetics. Nutrition. Metabolic imprinting. Early weaning.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo integrado do controle metabólico sobre a puberdade. Interação entre os hormônios periféricos e circuitos centrais que, em última instância incidem sobre neurônios de GnRH como via de saída final para a ativação da puberdade	22
Figura 2 - Diâmetro do maior folículo das novilhas pré-púberes que apresentavam mais de 240 Kg dos 10 aos 24 meses de idade	26
Figura 3 - Porcentagem de novilhas que entraram em puberdade até os 18, 26 e 30 meses de idade de acordo com o pai das novilhas (Touro)	32
Figura 4 - Esquema fatorial dos tratamentos.....	36
Figura 5 - Cronograma do experimento	37
Figura 6 - Proporção cumulativa (%) de novilhas que atingiram a puberdade em cada tratamento até os 36 meses de idade	43
Figura 7 - Concentração sérica de leptina de acordo com os tratamentos aos 9,14, 24 e 28 meses de idade e na semana da primeira ovulação	44
Figura 8 - Concentração sérica de IGF-1 de acordo com os tratamentos aos 9,14, 24 e 28 meses de idade e na semana da primeira ovulação	45
Figura 9 - Esquema dos tratamentos em arranjo fatorial	54
Figura 10 – Porcentagem acumulada do aparecimento da puberdade em novilhas cruzadas (Angus x Nelore) em cada tratamento	61
Figura 11 - Esquema dos tratamentos em arranjo fatorial	69
Figura 12 - Porcentagem acumulada do aparecimento da puberdade nas novilhas Nelore de acordo com cada tratamento	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas segundo cada ganho médio diário (GMD)	38
Tabela 2 - Desempenho das novilhas Nelore de acordo com cada tratamento até 3 anos de idade.....	42
Tabela 3 - Ingredientes e composição química das dietas segundo o período experimental.....	55
Tabela 4 - Desempenho das bezerras Nelore e cruzadas (Angus x Nelore) durante a fase 1.....	57
Tabela 5 - Desempenho das novilhas cruzadas (Angus x Nelore) durante a fase 2 do experimento.....	58
Tabela 6 – Desempenho das novilhas cruzadas (Angus x Nelore) durante todo o período experimental, dos 3 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade.....	60
Tabela 7 - Ingredientes e composição química das dietas segundo o período experimental.....	70
Tabela 8 - Desempenho das bezerras Nelore durante a fase 1	72
Tabela 9 - Desempenho das novilhas Nelore durante a fase 2 do experimento.....	73
Tabela 10 –Desempenho das novilhas Nelore durante todo o período experimental, dos 3 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade	75
Tabela 11 - Resposta à indução da puberdade com progesterona nas novilhas Nelore que não entraram naturalmente em puberdade até os 19 meses de idade	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	Importância da puberdade na pecuária de corte	19
2.2	Mecanismo endócrino da puberdade.....	20
2.3	Efeito da Nutrição na Puberdade.....	21
2.4	Efeito do <i>imprinting</i> metabólico nas fases iniciais do desenvolvimento de novilhas	27
2.5	Efeito da Genética na Puberdade	29
2.6	Considerações finais	33
3	EXPERIMENTO I - EFEITO DA NUTRIÇÃO E DA DEP DO TOURO PARA PRECOCIDADE SEXUAL NA PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE	34
3.1	Introdução	34
3.2	Hipóteses.....	35
3.3	Objetivos	35
3.4	Materiais e métodos	35
3.5	Resultados.....	40
3.6	Discussão	45
3.7	Conclusão.....	50
4	EXPERIMENTO II – EFEITO DA DESMAMA PRECOCE E DA NUTRIÇÃO NO <i>IMPRINTING</i> METABÓLICO SOBRE A PUBERDADE DE NOVILHAS CRUZADAS (NELORE X ANGUS).....	51
4.1	Introdução	51
4.2	Hipóteses.....	52
4.3	Objetivos	52
4.4	Materiais e Métodos.....	53
4.5	Resultados.....	56
4.6	Discussão	62
4.7	Conclusão.....	64

5	EXPERIMENTO III – EFEITO DA DESMAMA PRECOCE E DA NUTRIÇÃO NO <i>IMPRINTING</i> METABÓLICO SOBRE A PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE.	66
5.1	Introdução	66
5.2	Hipóteses	67
5.3	Objetivos	67
5.4	Materiais e Métodos	67
5.5	Resultados	71
5.6	Discussão	77
5.7	Conclusão	80
6	CONSIDERAÇÕES SOBRE OS EXPERIMENTOS	81
	REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

A principal raça de gado de corte criada no Brasil é a Nelore e as novilhas dessa raça nos sistemas de criação comumente encontrados no Brasil são tardias, ou seja, entram na vida produtiva com 2 a 3 anos de idade, ou até mais velhas (GALINA; ARTHUR, 1989; GUNSKI et al., 2001; SERENO et al., 2001). Apesar dessas referências serem antigas, a idade média ao primeiro parto ainda continua perto dos 3 anos de idade, segundo o sumário da ABCZ (2013) a evolução dessa característica foi de 39,9 em 1991 para 36,5 meses de idade em 2012. A idade avançada na puberdade e por consequência, ao primeiro parto é um fator que reduz o retorno econômico da bovinocultura de corte (ELER et al., 2010; FERREIRA et al., 2012). Isso ocorre pela menor produção de bezerros durante a vida produtiva da vaca (NUNEZ-DOMINQUEZ et al., 1991), além de aumentar a quantidade de categorias de animais dentro da fazenda (ELER et al., 2010; FERREIRA et al., 2012). No caso das novilhas tardias, é uma categoria improdutivo que ocupa áreas de pastagens que poderia ser destinada à outras categorias.

Os mecanismos endócrinos da puberdade estão bem estabelecidos em novilhas *Bos taurus taurus* e a teoria mais aceita para disparar o gatilho que desencadeia a primeira ovulação é a teoria gonadostática, na qual o gatilho chave é o *feedback* negativo exercido pelo estradiol sobre a liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (DAY et al., 1987; DAY et al., 2010). Para que haja a primeira ovulação é necessário que o *feedback* negativo do estradiol sobre a liberação pulsátil de GnRH seja diminuído até que o mesmo se torne positivo, induzindo a primeira ovulação (DAY et al., 1987; DAY et al., 2010). Vários fatores interferem no aparecimento da puberdade, dos quais os mais importantes são a genética e a nutrição. Dados de idade à puberdade em gêmeas idênticas indicam que 70 a 80% da variação na idade a puberdade em humanos pode ser explicada por fatores hereditários (ZACHARIAS; WURTMAN 1969; FISCHBEIN 1977; KAPRIO et al., 1995). A nutrição também desempenha um papel importante na puberdade através dos hormônios e metabólitos como o fator de crescimento semelhante a insulina - 1 (IGF-1), a leptina e outros que são estimulados diretamente pelo estado nutricional do animal. Esses sinais vão permitir o desencadeamento da primeira ovulação através do seu efeito, principalmente no hipotálamo, cujo processo final é a

liberação pulsátil de GnRH, como revisado por Barb et al. (1999); Willians et al. (2002) e Roa et al. (2010).

Em novilhas *Bos taurus taurus* há trabalhos que têm desenvolvido estratégias nutricionais e de manejo para acelerar seu ritmo de crescimento e com isso antecipar a puberdade através do *imprinting* metabólico durante as fases iniciais do desenvolvimento (desmamando as novilhas por volta dos 3 meses de idade; GASSER et al., 2006a; MORIEL et al., 2014). Contudo, em *Bos taurus indicus* pouco se sabe sobre puberdade precoce, principalmente, de como e quando a nutrição pode adiantar a puberdade de novilhas Nelore (NOGUEIRA, 2004). Além disso, não existe informação sobre o efeito da interação entre nutrição e genética na puberdade de novilhas Nelore. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é contribuir com o conhecimento sobre a puberdade precoce de novilhas Nelore, bem como avaliar o impacto de estratégias nutricionais sobre a puberdade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da puberdade na pecuária de corte

A puberdade em toda fêmea é considerada como uma série de eventos que culmina com a primeira ovulação e posterior formação de um corpo lúteo, possibilitando a primeira prenhez (MORAN et al., 1989). Sendo assim, podemos definir puberdade do ponto de vista zootécnico como o início da vida reprodutiva do animal. Do ponto de vista prático, quer dizer que a novilha, em breve, poderá ser submetida à cobertura e começar sua vida produtiva. Diante desta definição, a puberdade pode ser vista como um indicador econômico na pecuária de corte. Um trabalho de simulação mostrou que a redução da idade ao primeiro parto de 3 para 2 anos pode aumentar o retorno econômico do sistema de cria em 16%, pois ao se reduzir a idade ao primeiro parto em um ano, reduz o custo com a exclusão de um ano de recria. Além de diminuir uma categoria animal dentro da fazenda, há também o aumento de 0,5 a 0,8 bezerros por vaca durante sua vida produtiva (ELER et al., 2010).

No norte dos Estados Unidos da América onde 95% das novilhas são de raças europeias, principalmente da raça Angus, e estima-se que 95% das novilhas têm o primeiro parto aos 2 anos de idade (SHORT et al., 1994). No entanto, isso não foi sempre assim. Desde a década de 20, vários autores têm mostrado o efeito da redução da idade ao primeiro parto nos Estados Unidos da América e as conclusões que podemos tirar desses trabalhos são que a antecipação do primeiro parto dos 3 para os 2 anos aumenta a quantidade de bezerros desmamados por vaca durante sua vida produtiva e não reduz o tempo de permanência da vaca no rebanho (McCAMBELL, 1921; WITHEYCOMBE et al., 1930; PINNEY et al., 1972; NUNEZ-DOMINQUEZ et al., 1985; NUNEZ-DOMINQUEZ et al., 1991). Contudo, esses trabalhos mostram que há a necessidade de um cuidado nutricional, primeiro, para que a novilha atinja o peso ideal para a monta na primeira estação reprodutiva (ao redor dos 14 meses de idade) e segundo, após o primeiro parto, para que o resultado de prenhez da segunda estação de monta não seja comprometido.

No Brasil, o início da vida reprodutiva aos 14 meses em novilhas Nelore é uma realidade de poucos sistemas de produção, devido principalmente, a fatores como a condição nutricional encontrada nas propriedades de gado de corte e falta de seleção genética na raça Nelore para precocidade sexual das novilhas (FERREIRA et al., 2012; NEPOMUCENO, 2013). A condição genética pode ser suprida com o uso de protocolos de indução de puberdade com progesterona. Vários trabalhos têm mostrado alta eficiência da progesterona em induzir puberdade em novilhas Nelore ao redor dos 24 meses de idade e 300 Kg de peso corporal (CLARO JUNIOR et al., 2010; RODRIGUES et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014). No entanto, pouco se sabe sobre indução da puberdade em novilhas Nelore aos 12 meses de idade. Apesar de sabermos que é possível induzir a puberdade em novilhas Nelore, temos que ter em mente que a indução não resolve o problema da falta de precocidade da raça Nelore e que isso é agravado quando observamos o percentual de produtores que usam inseminação artificial no Brasil, cerca de 10% (ASBIA, 2014).

2.2 Mecanismo endócrino da puberdade

A teoria mais aceita para explicar como ocorre a puberdade é denominada hipótese gonadostática, que sugere que o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano já estaria funcionalmente competente logo nos primeiros meses de idade. Mas, devido ao *feedback* negativo sobre a secreção de GnRH durante a fase pré-púbere não há o estímulo necessário para aumentar a pulsabilidade do hormônio luteinizante (LH). Assim, com a gradativa redução da sensibilidade do hipotálamo ao *feedback* negativo do estrógeno, ocorre o aumento da frequência de liberação pulsátil de LH que culmina com a primeira ovulação (DAY et al., 1987; DAY et al., 2010).

O LH é considerado o fator endócrino primário para que a novilha se torne púbere, ou seja, faz com que a novilha tenha sua primeira ovulação. Desta forma, a maturação hipotalâmica necessária ao desencadeamento da puberdade ocorrerá a partir da redução do *feedback* negativo exercido pelo estrógeno, o que é observado na fase peri-púbere, por redução do número de receptores deste hormônio no hipotálamo e na adeno-hipófise, que ocorre progressivamente com o avançar da

idade e da condição nutricional do animal (DAY et al., 1987; DAY et al., 2010; ALVES et al., 2015).

Os mecanismos que fazem a redução do *feedback* negativo do estrógeno no hipotálamo que culmina com a liberação de GnRH é complexa e ainda não está completamente elucidada. Mas pesquisas com expressão gênica diferencial têm mostrado que o tecido responsável por essa transformação é o hipotálamo (CÁNOVAS et al., 2014). O hipotálamo tem recebido atenção significativa a este respeito, dada a sua capacidade de conectar o sistema reprodutivo ao status metabólico do animal (WATERSON; HORVATH, 2015). O impacto da nutrição e da genética no mecanismo endócrino da puberdade será mais amplamente discutido nos tópicos efeito da nutrição na puberdade e efeito da genética na puberdade. A maioria dos estudos em bovinos sobre puberdade é em novilhas *Bos taurus taurus* e os cruzamentos com essa raça. Os modelos de estudo dos mecanismos que levam a puberdade em novilhas *Bos taurus indicus* parecem similares aos descritos em novilhas *Bos taurus taurus* (NOGUEIRA, 2004). Contudo, as novilhas Nelore apresentam a puberdade com idade mais avançada do que novilhas Angus.

2.3 Efeito da Nutrição na Puberdade

A influência da nutrição sobre a puberdade se dá por um conjunto de vários fatores ou hormônios que são regulados via nutrição (tais como, IGF-1 opióides endógenos, neuropeptídeo Y (NPY), leptina, grelina, glicose e insulina) que servem como mensageiros (*feedback* positivo ou negativo) modulando a secreção e liberação de GnRH. Essa modulação via GnRH culmina com a estimulação da secreção e liberação de gonadotrofinas, induzindo o início dos eventos reprodutivos que determinam a ovulação e formação de um corpo lúteo (Figura 1; BARB et al., 1999; WILLIANS et al., 2002; ROA et al., 2010).

Figura 1 - Modelo integrado do controle metabólico sobre a puberdade. Interação entre os hormônios periféricos e circuitos centrais que, em última instância incidem sobre neurônios de GnRH como via de saída final para a ativação da puberdade

Fonte: Adaptado de Roa et al. (2010)

Nota: O IGF-1 é aumentado com o aumento da ingestão de energia (CHO – carboidrato; fator permissivo) via insulina; a leptina também é um sinal de abundância de energia (fator permissivo). A grelina é um sinal de falta de energia (fator inibidor). A função de neurônios kisspeptina como integradores entre os sinais periféricos e centrais que transmitem a informação metabólica em centros reprodutivos no hipotálamo. Os neurônios KISS1 têm sido propostos como alvos para as ações regulatórias da leptina, IGF-1 e talvez a grelina sobre os neurônios produtores de GnRH. Não obstante, pode ser plausível que parte das ações da leptina sobre os neurônios KISS1 pode ser realizado indiretamente por vias neuronais intermediárias, cuja natureza e relevância fisiológica ainda não estão elucidados.

O IGF-1 é um metabólito relacionado com o estado metabólico do animal, uma vez que a insulina estimula a produção de IGF-1 via expressão de receptores do hormônio de crescimento (BUTLER et al., 2003). O IGF-1 tem sido considerado um dos componentes que contribuem para os primeiros sinais que controlam a secreção de GnRH e a puberdade (HINEY et al., 2009). Como prova disso, há o aumento do IGF-1 antes da puberdade em roedores (HINEY et al., 1996), e em ruminantes (ROBERTS et al., 1990). Ainda, a administração central de IGF-1 estimulou a secreção de GnRH e LH e adiantou a puberdade em roedores (HINEY

et al., 1996). O IGF-1 está relacionado com a secreção e liberação de gonadotropina devido a expressão de receptor de IGF-1 em neurônios hipotalâmicos e células da glia, que podem regular a secreção e liberação do GnRH (DAFTARY; GORE, 2004). Ainda, o IGF-1 é um ativador do gene KISS-1 em ratas pré-púberes (HINEY et al., 2009) que talvez seja a chave para a puberdade (NAVARRO et al., 2004). Outro modo de ação do IGF-1 na reprodução é via aumento da expressão de receptores para as gonadotrofinas, assim aumentando a esteroidogênese (LUCY, 2000). Deste modo, o IGF-1 tem a capacidade de influenciar a manifestação da puberdade, bem como a função reprodutiva na vida adulta. Os receptores de LH e FSH em fêmeas pré-púberes são extremamente sensíveis ao balanço de energia e a baixas concentrações de estrógeno. A quantidade de alimento ingerido está positivamente associada com ganho de peso e com a concentração sérica de IGF-1 durante a puberdade (LENTS et al., 2005).

A identificação da leptina como um hormônio produzido pelo tecido adiposo revolucionou a endocrinologia moderna, pois permitiu entender como o peso corporal e o escore de condição corporal controlam diversas funções fisiológicas, dentre elas a puberdade (CASANUEVA; DIEGUES, 1999; ROA et al., 2010). Vários trabalhos em humanos e roedores tem demonstrado que a leptina é um sinal permissivo para a puberdade, mostrando que a quantidade de tecido adiposo no animal modula a base neuroendócrina para primeira a ovulação (ROA et al., 2010).

Não há dúvidas do papel essencial da leptina na puberdade, mas não há consenso de qual é o mecanismo de ação da leptina no controle da puberdade. Especula-se que haja uma ação direta da leptina na modulação do GnRH. Estudos têm mostrado que a infusão de leptina no cérebro de camundongos em jejum estimula a secreção de GnRH e LH (WATANOBÉ, 2002), e que células GnRH GT1-7 produzem RNAm para receptores de leptina (MAGNI et al., 1999). No entanto, experimentos com primatas e roedores não confirmaram essa ação direta da leptina nos neurônios secretores de GnRH (ROA et al., 2010). Alguns trabalhos têm mostrado que a leptina pode inibir a expressão de NPY (GAMBA et al., 2006), e pode modular a expressão de receptores de kisspeptina. Contudo, a administração crônica de leptina recombinante foi capaz de aumentar de forma efetiva a concentração plasmática de leptina, mas não aumentou a frequência de pulsos de LH e nem antecipou a puberdade em novilhas de corte (MACIEL et al., 2004; CARVALHO et al., 2013). Aparentemente, a leptina não é responsável pelo disparo

do gatilho da puberdade, mas serve de sinal permissivo para que ele ocorra (BARB; KRAELING, 2004; MACIEL et al., 2004).

Outro hormônio que pode estar envolvido na modulação da puberdade e está intimamente relacionado com a nutrição é a grelina. A grelina é um hormônio proteico sintetizado, principalmente, no estômago de monogástrico e no abomaso de ruminantes (KOJIMA et al., 1999; HAYASHIDA et al., 2001). Este hormônio é responsável pela sensação do apetite (KOJIMA et al., 1999). Resultados indicam que há variação na concentração de grelina de acordo com a raça de bovinos de corte e essa variação influencia o consumo de matéria seca entre as raças (FOOTE et al., 2014). Trabalhos têm mostrado que a grelina tem um efeito inibitório na secreção de gonadotrofinas (principalmente o LH) em diversas espécies de mamíferos, incluindo roedores, ovelhas e primatas (TENA-SEMPERE, 2008a,b). Esse efeito supressor sobre as gonadotrofinas é reflexo de uma condição de balanço energético negativo (TENA-SEMPERE, 2008a,b; ROA et al., 2010). O mecanismo pelo qual a grelina influencia a puberdade ainda não está completamente caracterizado. Resultados fragmentados em ratos demonstraram que a aplicação de grelina reduziu a frequência de pulsos de GnRH (LEBRETHON et al., 2007), inibiu a secreção de LH via inibição não seletiva de antagonista do hormônio liberador de corticotrofinas (VULLIEMOZ et al., 2008) e suprimiu a expressão gênica de Kiss-1 no hipotálamo (FORBES et al., 2009).

A kisspeptina não sofre influência direta da nutrição ou do seus produtos, mas a nutrição estimula a produção de RNAm de Kiss1 no hipotálamo via metabólitos e hormônios como o IGF-1, a leptina e a grelina (HINEY et al., 1996; ROA et al., 2010). A kisspeptina é uma proteína que é codificada pelo gene Kiss-1 que se liga ao receptor acoplado à proteína G (GPR54). Esse sistema tem surgido como essencial para o gatilho da puberdade (ROA et al., 2010). O gene Kiss-1 é expresso em grupos de neurônios localizados no hipotálamo de mamíferos. Estudos *in-situ* com hibridização e imunohistoquímica mostraram relevante expressão de Kiss-1 nos núcleos antroventral, periventricular e arcuado do hipotálamo (REVEL et al., 2006). Aparentemente, a kisspeptina tem um efeito direto nos neurônios secretores de GnRH no hipotálamo (HAN et al., 2005; YEO et al., 2011). O balanço energético negativo devido à restrição alimentar causa supressão de RNAm de Kiss-1 no hipotálamo (CASTELLANO et al., 2011). Estudos fragmentados têm demonstrado que o sistema Kiss-1 é controlado por NPY, IGF-1, leptina, grelina, fotoperíodo entre

outros (LUQUE et al., 2007; FORBES et al., 2009; HINEY et al., 2009). No entanto, os efeitos sobre o sistema Kiss-1 não vêm de estudos específicos de puberdade, que merece análise específica sobre o papel de cada sinal metabólico na regularização do sistema Kiss-1 e o seu efeito na puberdade.

Neurônios NPY localizados no núcleo arcuado são considerados um importante componente celular que faz a ponte entre o estado metabólico, nutrição e reprodução (ROA et al., 2010; ALVES et al., 2015). Foi observado um decréscimo na expressão do NPY com a aproximação da puberdade em ovelhas (TILLET et al., 2010). A administração de NPY no sistema nervoso central atrasou a puberdade e a administração de um antagonista do NPY adiantou a puberdade em ratos (PIERROZ et al., 1995; PRALONG et al., 2000). Novilhas submetidas a elevado ganho de peso (1 kg/dia) mostraram redução na expressão de NPY e diminuição da estreita aposição entre fibras de NPY com os neurônios secretores de GnRH quando comparados com o grupo de baixo ganho de peso (0,5 kg/dia) (ALVES et al., 2015). Assim, é proposto que a diminuição da inibição do NPY sobre a secreção de GnRH permite que a fêmea entre em puberdade (PIERROZ et al., 1995; PRALONG et al., 2000; ALVES et al., 2015).

Uma vez que a nutrição pode influenciar a idade à puberdade, é importante caracterizar o estado nutricional dos animais em qualquer estudo com puberdade. Principalmente, no que diz respeito ao sistema de criação a pasto, que na maioria dos casos não permite uma condição nutricional ótima para o aparecimento da puberdade aos 14 meses de idade em novilhas Nelore. Nepomuceno (2013) mostrou que novilhas Nelore recriadas em confinamento (ganho médio diário - GMD de 0,600 Kg/dia dos 7 aos 11 meses de idade) apresentaram taxa de puberdade aos 18 meses (final da primeira estação de monta) de 32%, ao passo que as novilhas recriadas no pasto obtiveram uma taxa de puberdade de 14%. As taxas de puberdade na primeira estação de monta foram diferentes devido ao desenvolvimento corporal que cada sistema de recria proporcionou às novilhas. Desta maneira, o menor ritmo de crescimento das novilhas foi um fator limitante para a manifestação da puberdade precoce.

O tamanho do maior folículo no ovário está relacionado com o status nutricional do animal, uma vez que a nutrição exerce efeitos indiretos nos pulsos de GnRH, que por sua vez reduz seletivamente a secreção pulsátil de LH. Esses efeitos indiretos são via IGF-1, Pró-opiomelanocortina (POMC), leptina, NPY, entre outros

como discutidos acima e também revisado por Amstalden et al. (2011) e Perry (2016). Nepomuceno (2013) mostrou a relação entre a nutrição e o tamanho do maior folículo no ovário de novilhas não púberes de acordo com o ritmo de crescimento. Com o término do confinamento as novilhas foram para o pasto na estação chuvosa, essa mudança de alimentação fez com que as novilhas apresentassem GMD de apenas 8,8 kg dos 11 até os 14 meses de idade, o baixo GMD fez com que as novilhas apresentassem grande queda no diâmetro do maior folículo, principalmente logo após a mudança na alimentação (Figura 2). O auge da estação seca foi aos 21 meses de idade e nessa idade as novilhas apresentaram GMD de $0,286 \pm 0,01$ kg/d o que levou ao menor diâmetro do maior folículo. Após isso, começou outra estação chuvosa e nesse período as novilhas apresentaram GMD de $0,613 \pm 0,02$ kg/d o que levou a um grande aumento no diâmetro do maior folículo. Então, as novilhas começaram a obter energia suficiente para entrar em puberdade.

Figura 2 - Diâmetro do maior folículo das novilhas pré-púberes que apresentavam mais de 240 Kg dos 10 aos 24 meses de idade

Fonte: Adaptado de Nepomuceno (2016)¹.

¹ NEPOMUCENO, D. D. Effect of pre-partum dam supplementation, creep-feeding and post-weaning feedlot on age at puberty in Nellore heifers. 2016.

2.4 Efeito do *imprinting* metabólico nas fases iniciais do desenvolvimento de novilhas

O *Imprinting* metabólico é descrito como eventos que acontecem no início da vida do animal cujas consequências fisiológicas vão aparecer a longo prazo (HANLEY, 2010). Esses eventos podem ser definidos como processos dinâmicos que estão associados com fenômenos que, às vezes, podem ser explicados por expressão genica mediada pela epigenética (HANLAY, 2010). Nesta área do conhecimento, o ponto mais estudado é o efeito do *imprinting* metabólico, em relação a desnutrição materna, obesidade e diabetes durante gestação e lactação contribuindo para causar obesidade na prole (LEVIN, 2006). Outro ponto que parece ser afetado por perturbações durante o desenvolvimento inicial do animal é o desenvolvimento neurológico (HANLAY, 2010; UENOYAMA et al., 2016).

Tem sido demonstrado que os padrões de transcrição genica podem ser alterados pela nutrição durante o início da vida, causando diferente funcionamento de, pelo menos três chaves cruciais para o início da puberdade, são eles kisspeptina (revisado por UENOYAMA et al., 2016), leptina (SUGDEN et al., 2001; MANTZOROS et al., 1997) e POMC (STEVENS et al., 2011). Nos últimos anos, diversos trabalhos têm mostrado o efeito do *imprinting* metabólico causado pelo aumento do status metabólico ao redor dos 3 até os 7 meses de idade, e o seu impacto na puberdade de novilhas. A maioria dessas pesquisas tiveram como objetivo aumentar a frequência dos pulsos de LH que ocorrem na fase peripúbere. A alimentação das bezerras com dietas contendo alta inclusão de concentrado aliado com a desmama precoce acelera a maturidade ovariana (GASSER et al., 2006c), aumenta o diâmetro máximo dos folículos dominantes (GASSER et al., 2006c), aumenta a duração das ondas de desenvolvimento folicular (GASSER et al., 2006c) e aumenta o pico de estradiol durante as ondas de desenvolvimento folicular (GASSER et al., 2006b). Assim, as estratégias nutricionais que visam o *imprinting* metabólico possibilitam eliminar a fase estática durante a pré-puberdade, fazendo com que as novilhas entrem na fase peri-púberes após a fase de desenvolvimento na pré-puberdade, encurtando a fase estática (GASSER et al., 2006a; DAY et al., 2010).

A principal hipótese dos trabalhos com *imprinting* metabólico ao redor dos 3 aos 7 meses de idade é que o acelerado ritmo de crescimento corporal neste período pode promover eventos de *imprinting* metabólico, o que pode acelerar a puberdade de novilhas. Esta hipótese foi desenvolvida com base em duas premissas: a puberdade em bovinos é altamente influenciada pelo estado nutricional e do desenvolvimento corporal, incluindo o ritmo de crescimento, a deposição de gordura e a concentração de hormônios associados com o metabolismo de nutrientes e lipogênese (SCHILLO et al., 1992), tal como IGF-I e a leptina (WILLIAMS et al., 2002). A outra premissa é que os sistemas de alimentação que estimulam *imprinting* metabólico nessa fase podem melhorar o metabolismo dos nutrientes e acelerar a deposição de gordura corporal (GRAUGNARD et al., 2010; MORIEL et al., 2014; SCHEFFLER et al., 2014). Essa teoria é apoiada pelo trabalho de Moriel et al. (2014) que observaram redução no peso e na idade à puberdade em novilhas desmamadas aos 72 dias de idade e alimentadas com uma dieta com elevado teor de concentrado até os 6 meses de idade, em comparação com bezerras que tiveram um médio desenvolvimento durante esse período.

No trabalho de Gasser et al. (2006a), observou-se que novilhas Angus alimentadas com alta inclusão de concentrado obtiveram uma taxa média de 84% de puberdade precoce com 262 dias (8,7 meses) de idade. Os tratamentos controle de quatro trabalhos de Gasser et al. (2006a,b,c,d) obtiveram 19% de puberdade em 348 dias (11,6 meses) de idade, esses dados corroboram o efeito de *imprinting* metabólico em adiantar a puberdade. Outra constatação com a análise dos trabalhos de Gasser et al. (2006a,b,c,d) e Moriel et al. (2014) é que há uma grande diferença na idade à puberdade de novilhas Nelore em comparação com novilhas Angus, visto que em *Bos taurus indicus* admite-se puberdade precoce com 16 meses de idade, ou seja, 480 dias (NOGUEIRA, 2004; FERREIRA et al., 2012; NEPOMUCENO, 2013). Isso mostra que há um componente genético forte no aparecimento da puberdade. No entanto, não há trabalhos do efeito do *imprinting* metabólico em novilhas Nelore, bem como suas cruzas.

2.5 Efeito da Genética na Puberdade

O efeito da genética sobre a puberdade é bem conhecido, por exemplo, em humanos (PARENT, 2003). Alguns autores têm sugerido que 70 a 80 % da variação na idade a puberdade em gêmeos idênticos em humanos pode ser explicada por fatores hereditários (ZACHARIAS; WURTMAN 1969; FISCHBEIN 1977; KAPRIO et al., 1995). Kaprio et al. (1995) analisaram a relação entre idade à puberdade e índice de massa corporal e concluíram que 74 % da variação na idade a puberdade pode ser explicada pela genética (37 % efeito aditivo e 37 % efeito de dominância) e 26 % por fatores ambientais. Palmert e Boepple (2001) sugeriram que o controle genético sobre a puberdade era susceptível de um padrão de herança poligênica complexa. Cánovas et al. (2014) analisaram 8 tecidos de novilhas Brangus pré e pós-púberes por RNA-Seq e encontraram diferente expressão em 1515 genes e expressão específica no tecido em 943 genes dentro dos 17.832 genes com um RPKM <0.2. As amostras de hipotálamo foram as que mostraram maior aumento na regulação dos genes sobre a puberdade quando comparado com os outros tecidos analisados (Glândula pituitária, útero, endométrio, ovário, fígado, músculo e tecido adiposo).

Ainda não está bem elucidado como a genética pode influenciar na puberdade. Uma revisão de Maderspacher (2010) com peixes *Panuco swordtail* (*Xiphophorus nigrensis*) sobre a relação entre tamanho dos peixes e a idade à puberdade, concluíram que os peixes apresentavam a mesma taxa de crescimento. No entanto, os machos precoces apresentavam maior quantidade de receptores viáveis de receptor de melanocortina 4 (Mc4r) na adeno-hipófise. Por outro lado, machos tardios continuavam crescendo e ficavam maiores, pois apresentavam cópias não funcionais dos Mc4r. Esses autores concluíram que 50 a 60% do tamanho dos machos pode ser explicado por essa diferença genética. Em mamíferos, vários autores têm mostrado que a puberdade é mediada por vários genes que formam uma rede composta por várias vias funcionais (OJEDA et al., 2006; FORTES et al., 2010; FORTES et al., 2012; CÁNOVAS et al., 2014). Em outras palavras, a puberdade é influenciada por vários genes que interagem. Como prova disso, mutações em genes tais como GPR54 (SEMINARA et al., 2003), GnRHR (BEDECARRATS; KAISER, 2003), TAC3, TACR3 (TOPALOGU et al., 2009), e KISS1 (LAPATTO et al., 2007) têm sido associadas com falha na

puberdade em mamíferos. Sabe-se que os fenótipos controlados por múltiplos genes são, por definição, características quantitativas (HILL et al., 2010) e características quantitativas são hereditárias e sendo assim podem ser usadas nos programas de melhoramento genético.

É consenso entre os autores que o melhoramento genético no Nelore nos últimos 15 anos foi notório, principalmente em características como ganho de peso, musculosidade, peso a desmama, entre outras. No entanto, no que diz respeito às características reprodutivas, mais especificamente a idade à puberdade, a maioria dos programas genéticos ainda não avançou o que seria possível pela teoria (ELER et al., 2010).

Uma das características comumente utilizadas para a seleção por precocidade é a circunferência escrotal. No entanto, há controvérsias sobre a eficiência do uso da circunferência escrotal como indicador de puberdade, pois a relação entre circunferência escrotal e puberdade depende da idade que os animais foram avaliados (JOHNSTON et al., 2014; SANTANA 2015). O estudo de Johnston et al. (2014) com gado da raça Brahman mostra que a correlação do perímetro escrotal com a idade a puberdade foi maior quando o perímetro escrotal foi mensurado aos 12 meses de idade. Aos 18 meses de idade, a correlação foi diminuída e não houve correlação entre a circunferência escrotal com a idade a puberdade aos 24 meses de idade.

Alguns trabalhos têm sugerido que se trabalhe com a idade ao primeiro parto (IPP) na seleção das novilhas precoces (ELER et al., 2010). A IPP parece ser uma característica promissora para se avaliar a precocidade de novilhas. Essa característica apresenta-se com herdabilidade bastante variável dependendo da conjuntura em que é interpretada. Por exemplo, os valores encontrados na literatura de herdabilidade para a característica idade ao primeiro parto variam de 57 (ELER et al., 2002) a 12% (SILVA et al., 2005). Essa variação deve-se ao fato de que quando a herdabilidade é de 57%, as novilhas foram expostas ao touro com 14 meses de idade. Ao passo que na herdabilidade de 12% as novilhas foram colocadas na estação de monta aos 24 meses de idade.

Nosso grupo de estudo tem dados que exemplificam bem a necessidade da avaliação dos animais ao longo do tempo para aumentar a herdabilidade das características reprodutivas (Figura 3). Os dados mostrados na figura 3 mostram que aos 18 meses de idade há uma grande diferença na porcentagem de novilhas

púberes de acordo com o pai da novilha. Contudo, a diferença é diminuída aos 26 meses de idade e quase não existe aos 30 meses de idade. Outra conclusão que podemos tirar desses dados é que a idade à puberdade é fortemente impactada por fatores genéticos na raça Nelore. A utilização de touros precoces permite começar a emprenhar novilhas Nelore na primeira estação de monta, desde de que haja condições nutricionais para as novilhas expressarem seu potencial genético (Figura 3; NEPOMUCENO, 2013).

Figura 3 - Porcentagem de novilhas que entraram em puberdade até os 18, 26 e 30 meses de idade de acordo com o pai das novilhas (Touro)

Fonte: Adaptado de Nepomuceno (2013) e Nepomuceno (2016)².

Legenda: Touro 11 (RM – reprodutores múltiplos; filhas de um conjunto de touros).

² NEPOMUCENO, D. D. Effect of pre-partum dam supplementation, creep-feeding and post-weaning feedlot on age at puberty in Nellore heifers. 2016.

2.6 Considerações finais

A idade a puberdade é um importante componente nos sistemas de produção de gado de corte, uma vez que impacta de forma direta a produtividade das vacas durante sua vida produtiva. Os dois fatores mais importantes que afetam a idade a puberdade em novilhas são a nutrição e a genética. O hipotálamo é o tecido responsável por ligar esses dois fatores, pois reage tanto aos estímulos nutricionais como ao genótipo. Essa ligação se dá pelos vários metabólitos e hormônios como o IGF-1, leptina, entre outros que agem nos centros hipotalâmicos que em última instância induz a liberação pulsátil de GnRH, culminando com a primeira ovulação. Neste sentido há evidências do efeito do *imprinting* metabólico durante as fases iniciais do desenvolvimento, no qual um ritmo de crescimento elevado pode acelerar a puberdade de novilhas. Contudo, a maior parte dos trabalhos, principalmente, avaliando o efeito da nutrição na puberdade são em raças taurinas e há poucos trabalhos com novilhas da raça Nelore, especificamente com o efeito do *imprinting* metabólico não temos relatos desse tipo em novilhas Nelore.

3 EXPERIMENTO I - EFEITO DA NUTRIÇÃO E DA DEP DO TOURO PARA PRECOCIDADE SEXUAL NA PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE

3.1 Introdução

A puberdade em toda fêmea é considerada como uma série de eventos que culmina com a primeira ovulação e posterior formação de um corpo lúteo, possibilitando a primeira prenhez (MORAN et al., 1989). Sendo assim, podemos definir puberdade do ponto de vista zootécnico como o início da vida reprodutiva da fêmea. Do ponto de vista prático, quer dizer que a novilha, em breve, poderá ser submetida à cobertura e começar sua vida produtiva. Diante desta definição, a puberdade pode ser vista como um indicador econômico na pecuária de corte. Um trabalho de simulação mostrou que a redução da idade ao primeiro parto de 3 para 2 anos pode aumentar o retorno econômico do sistema de cria em 16%, pois ao se reduzir a idade ao primeiro parto em um ano, reduz o custo com a exclusão de um ano de recria. Além de diminuir uma categoria animal dentro da fazenda, há também o aumento de 0,5 a 0,8 bezerros por vaca durante sua vida produtiva (ELER et al., 2010).

A principal raça de gado de corte criada no Brasil é a Nelore e as novilhas dessa raça nos sistemas de criação comumente encontrados no Brasil são tardias, ou seja, entram na vida produtiva com 2 a 3 anos de idade, ou até mais velhas (GALINA; ARTHUR, 1989; GUNSKI et al., 2001; SERENO et al., 2001). Apesar dessas referências serem antigas, a idade média ao primeiro parto ainda continua perto dos 3 anos de idade, segundo o sumário da ABCZ (2013) a evolução dessa característica foi de 39,9 em 1991 para 36,5 meses de idade em 2012. No Brasil, o início da vida reprodutiva aos 14 meses em novilhas Nelore é uma realidade de poucos sistemas de produção, devido principalmente, a fatores como a condição nutricional encontrada nas propriedades de gado de corte e falta de seleção genética na raça Nelore para precocidade sexual das novilhas (FERREIRA et al., 2012; NEPOMUCENO, 2013). Segundo Nepomuceno (2013) a idade à puberdade é fortemente impactada por fatores genéticos na raça Nelore e a utilização de touros precoces permite começar a emprenhar novilhas Nelore na primeira estação de

monta, desde de que haja condições nutricionais para as novilhas expressarem seu potencial genético.

3.2 Hipóteses

- O GMD elevado será suficiente induzir o aparecimento da puberdade nas novilhas filhas de touro precoce até os 18 meses de idade. No entanto, o GMD elevado (0,700 Kg/dia) não será suficiente induzir o aparecimento da puberdade nas novilhas filhas de touro tardio até os 18 meses de idade.
- As novilhas que serão submetidas ao GMD baixo (0,300 Kg/dia), tanto filhas de touros tardios como precoces, terão o aparecimento da puberdade em idades semelhantes.

3.3 Objetivos

Avaliar a interação entre o ritmo de crescimento (GMD de 0,300 e 0,700 Kg/dia) e diferença esperada na progênie para precocidade sexual (DEP's positiva e negativa para idade ao primeiro parto) na idade à puberdade de novilhas Nelore.

3.4 Materiais e métodos

O experimento foi conduzido nas instalações experimentais do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal – LNRA, no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP.

Foram utilizadas 58 novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) desmamadas aos 8 meses de idade, filhas de 4 touros (2 com DEP positiva para idade ao primeiro parto [IPP touro tardio; touros nos percentis 96 (n = 13) e 100 (n = 12) do sumário da ABCZ de 2013] e 2 com DEP negativa para IPP [touro precoce; touros nos percentis 1% (n = 11) e 10% (n = 22) do sumário da Gensys 2015]. As novilhas foram distribuídas nos tratamentos levando em consideração o peso inicial e a mãe, uma vez que eram provenientes de fertilização *in vitro*. No total foram

usadas filhas de 20 doadoras, sendo que das 20 doadoras, 13 eram mães de apenas 1 novilha, 2 com 2 novilhas, 2 com 3 novilhas, 3 com 5 novilhas, 1 com 6 novilhas e 1 com 14 filhas. A mãe não entrou no modelo experimental pela variabilidade na quantidade de filhas entre as doadoras, foi feita apenas a distribuição, quando possível, entre os tratamentos.

As novilhas foram divididas em dois grupos, um submetido ao GMD elevado (0,700 kg/novilha/dia $n = 29$ novilhas) e outro submetido ao GMD baixo (0,300 kg /novilha/dia $n = 29$ novilhas). Formando um esquema em fatorial 2×2 , no qual o fator 1 foi a DEP do touro para IPP e o fator 2 foi GMD, constituindo assim quatro tratamentos: filhas de touros precoces com GMD elevado (PGA), filhas de touros precoces com GMD baixo (PGB), filhas de touros tardios com GMD elevado (TGA), filhas de touros tardios com GMD baixo (TGB) (Figura 4).

Figura 4 - Esquema fatorial dos tratamentos

Legenda: Fator - 1 DEP positiva [filhas de touros tardios] e DEP negativa [filhas de touros precoces] para idade ao primeiro parto; Fator 2 - o Ganho Médio Diário (GMD) elevado (0,700 Kg/dia) e baixo (0,300 Kg/dia); Tratamentos – filhas de touros precoces com GMD elevado (PGA), filhas de touros precoces com GMD baixo (PGB), filhas de touros tardios com GMD elevado (TGA), filhas de touros tardios com GMD baixo (TGB).

O período experimental foi dos 8 meses de idade até a puberdade para 48 novilhas. Dez novilhas filhas de touros tardios não foram acompanhadas até a puberdade. Duas novilhas do tratamento TGA foram abatidas aos 27 meses de idade e pesavam 525 e 566 Kg e apresentaram GMD de 0,616 e 0,750 Kg/dia durante o experimento, respectivamente. Oito novilhas do tratamento TGB não

entraram em puberdade até os 36 meses de idade, essas novilhas pesavam 362 ± 6 Kg de peso corporal (Figura 5).

Figura 5 - Cronograma do experimento

Legenda: O experimento começou após a desmama aos 8 meses de idade. Aos 27 meses de idade terminou o experimento das novilhas submetidas ao GMD elevado, nesta idade as últimas duas novilhas do tratamento TGA que ainda não estavam púberes foram abatidas. Aos 30 meses de idade, as novilhas dos tratamentos submetidos ao GMD baixo que ainda não estavam púberes foram alocadas em regime de pasto. Aos 36 meses terminou o acompanhamento das novilhas que ainda não estavam púberes.

Quinze novilhas (PGB = 3; TGB = 12) que não entraram em puberdade até os 30 meses de idade retornaram para a fazenda e foram mantidas em regime de pasto. Essas novilhas passaram por pesagem e ultrassonografia a cada 2 dois meses, até atingirem 36 meses de idade (Figura 5).

A dieta das novilhas do grupo de GMD baixo (0,300 kg/dia) consistiu de feno com suplementação de casca de soja. A dieta do grupo de GMD elevado (0,700 kg/dia) consistiu de feno, milho moído e farelo de soja (Tabela 1).

Tabela 1 - Ingredientes e composição química das dietas segundo cada ganho médio diário (GMD)

Ingredientes (% da MS)	Composição das Dietas	
	GMD 0,700 kg/dia	GMD 0,300 kg/dia
Feno	25,2	93
Farelo de Milho	62,9	0
Farelo de Soja	11,9	0
Casca de Soja	0	7
PB (% da MS)	14	11
FDN (% da MS)	36	67
NDT (% da MS)	70	55

Legenda: MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra detergente neutro; NDT: Nutrientes digestíveis totais; os valores de PB, FDN e NDT foram calculados através do NRC (1996). Na dieta das novilhas submetidas ao GMD elevado foi adicionado 30 ppm de monensina sódica misturada. Foi fornecido mistura mineral ad libitum em cocho separado.

As novilhas foram alojadas em baias, sendo duas ou três irmãs por baia, permitindo avaliar o consumo de matéria seca (CMS) da baia. As novilhas foram alimentadas uma vez ao dia, pela manhã, utilizando um vagão de mistura total equipado com balança eletrônica. O cálculo do CMS foi realizado tendo como parâmetro cada baia. O CMS foi mensurado até as novilhas entrarem em puberdade, ou até os 27 meses de idade no caso das duas novilhas do tratamento TGA que foram batidas, ou ainda até os 30 meses no caso das 15 novilhas dos tratamentos PGB e TGB que foram para o pasto. A estimativa do CMS no experimento para as novilhas dos tratamentos PGB e TGB que foram para o pasto aos 30 meses de idade, foi calculada pela multiplicação do CMS médio até os 30 meses de idade multiplicado pelo tempo que permaneceu no pasto, até 36 meses. O CMS no experimento das novilhas dos tratamentos TGA e TGB que não entraram em puberdade foi calculado até elas serem abatidas aos 27 meses no tratamento TGA e 36 meses no tratamento TGB.

Semanalmente, todas as novilhas passaram por pesagem, colheita de sangue para dosagem de progesterona para confirmar a puberdade. Os ovários foram avaliados quanto a presença de um CL (corpo lúteo) por ultrassonografia (US) dos 8 meses de idade até a puberdade. A novilha foi considerada púbere quando foi detectado um CL por US e confirmada pela dosagem de progesterona da semana

em que foi visto o CL e da semana anterior, sendo a concentração de progesterona maior que 1 ng/mL na semana de detecção do CL e menor que 1 ng/mL na semana anterior. Antes de cada pesagem, as novilhas ficavam em jejum sólido por 16 horas. As novilhas permaneceram neste esquema até atingirem puberdade, à medida que foram entrando em puberdade foram retiradas do experimento.

Foram colhidas amostras de sangue por punção da veia ou artéria coccígea das novilhas aos 9, 14, 18, 24 e 28 meses de idade para avaliação da concentração sérica de IGF-1 e Leptina. A dosagem de IGF-1 foi realizada por quimioluminescência automatizada com a utilização de kits comerciais para IMMULITE® 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA). Os coeficientes de variação foram 3,4% e 2,7% para o ajuste alto e baixo, respectivamente, e a sensibilidade do teste foi de 20 ng/mL. A dosagem de progesterona também foi realizada por quimioluminescência automatizada com a utilização de kits comerciais para IMMULITE® 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA). Os coeficientes de variação foram 5,7% e 3,4% para o ajuste alto e baixo, respectivamente, e a sensibilidade do teste foi de 0,46 ng/mL. As análises hormonais de IGF-1 e progesterona foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal – LNRA/LZT/ESALQ/USP. A dosagem de leptina foi realizada utilizando kits comerciais de radioimunoensaio (Multi-Species Leptin, Millipore - XL-85K). Os coeficientes de variação intra-ensaio foram de 2,1% e 2,6% e os inter-ensaio foram de 2,4% e 9,0%, respectivamente, e a sensibilidade do ensaio foi de 1 ng/mL.

A análise estatística não foi realizada com os tratamentos em arranjo fatorial, pois o tratamento TGB apresentou apenas 38% (5/13) das novilhas em puberdade. Sendo assim, a análise estatística não traz o efeito da interação entre os fatores. Cada novilha foi considerada como unidade experimental para a análise das variáveis peso inicial, peso à puberdade, idade à puberdade, dias no experimento e GMD até a puberdade. Para as avaliações de CMS, CMS no experimento foram consideradas as baias como unidade experimental. As variáveis contínuas foram analisadas pelo procedimento MIXED. Antes, porém da análise pelo MIXED foi verificado a normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e normalidade das variâncias (Welch) dos dados. A comparação entre as médias dos tratamentos PGA, TGA, PGB, TGB foram comparadas pelo PDIFF, ao nível de 5 % de significância.

A taxa de puberdade foi analisada por curva de sobrevivência feita utilizando o procedimento LIFETEST e foi utilizado o teste LOGRANK para determinar a diferença entre as curvas de sobrevivência de cada tratamento.

A concentração de IGF-1 e leptina foi analisada como medida repetida no tempo (idade 9, 14, 18, 24 e 28 meses de idade e na puberdade) utilizando o procedimento MIXED. Todos os procedimentos pertencem ao pacote estatístico SAS 9.3.

3.5 Resultados

Nos tratamentos com filhas de touros precoces, 100% das novilhas atingiram a puberdade até os 3 anos de idade. Os tratamentos com novilhas filhas de touros tardios apresentaram 83% (TGA - até 27 meses de idade) e 38% (TGB - até 3 anos de idade) de novilhas púberes (Tabela 2; Figura 5). As novilhas filhas dos touros precoces submetidas ao GMD elevado apresentaram a menor ($P = 0,0001$) idade na puberdade (PGA – $18,1 \pm 1$ m) quando comparadas com os outros tratamentos. Neste tratamento, as novilhas começaram a apresentar puberdade em torno dos 14 meses de idade e terminaram aos 23 meses de idade (Tabela 2; Figura 5). No outro extremo, 38% das novilhas tardias submetidas ao GMD baixo apresentaram puberdade até 36 meses de idade. Um fato curioso foi que nenhuma novilha em nenhum tratamento apresentou puberdade nos meses de junho, julho e agosto de 2014 e de 2015.

A diferença na idade ($P = 0,0001$) na puberdade entre os tratamentos levou a diferenças no GMD ($P = 0,0001$) e no peso ($P = 0,0001$) à puberdade das novilhas submetidas ao ritmo de crescimento elevado. As filhas dos touros tardios submetidas ao GMD elevado apresentaram o maior peso ($P = 0,0001$) na puberdade (TGA – 468 ± 15 Kg) e não houve diferença no peso a puberdade das novilhas filhas de touros precoces (PGA – 360 ± 12 Kg e PGB - 340 ± 8 Kg) (Tabela 2). Não houve diferença no GMD das novilhas e nem no CMS entre os tratamentos submetidas ao GMD baixo (Tabela 2). Já nos tratamentos de GMD elevado, as novilhas filhas dos touros precoces apresentaram o maior GMD (PGA – $0,749 \pm 0,03$ Kg/dia) até a puberdade quando comparados com novilhas filhas dos touros tardios (TGA – $0,646$

$\pm 0,03$ Kg/dia). No entanto, as novilhas do tratamento TGA ($0,781 \pm 0,03$ Kg/dia) aos 18 meses de idade apresentavam o mesmo GMD das novilhas do tratamento PGB ($0,744 \pm 0,04$ Kg/dia) (Tabela 2).

Tabela 2 - Desempenho das novilhas Nelore de acordo com cada tratamento até 3 anos de idade

	Tratamentos				P-valor
	PGA	TGA	PGB	TGB	
N	17	12	16	13	
Peso inicial, Kg	174 ± 6	174 ± 7	172 ± 6	177 ± 7	0,9724
Puberdade, %	100	83	100	38	.
Peso à puberdade, Kg	360 ^{ab} ± 12	468 ^c ± 15	340 ^a ± 8	390 ^b ± 22	0,0001
Idade à puberdade, m	18,1 ^a ± 1	23,9 ^b ± 1	28,9 ^c ± 1	34,5 ^d ± 1	0,0001
GMD até 18 meses, Kg	0,744 ^a ± 0,04	0,78 ^a ± 0,03	0,270 ^b ± 0,03	0,242 ^b ± 0,03	0,0001
GMD até a puberdade, Kg	0,739 ^a ± 0,02	0,646 ^b ± 0,03	0,292 ^c ± 0,02	0,276 ^c ± 0,04	0,0001
CMS, Kg/dia	5,6 ^a ± 0,09	5,9 ^b ± 0,09	4,5 ^c 0,1	4,5 ^c ± 0,1	0,0001
CMS no experimento ¹ , Kg	1517 ^a ± 151	2791 ^b ± 174	2700 ^b ± 161	3588 ^c ± 270	0,0001

Notas: Tratamentos – filhas de touro precoce com GMD elevado (PGA), filhas de touro precoce com GMD baixo (PGB), filhas de touro tardio com GMD elevado (TGA), filhas de touro tardio com GMD baixo (TGB). Duas novilhas do tratamento TGA foram abatidas aos 27 meses de idade sem estarem púberes. Essas novilhas pesavam 525 e 566 Kg e apresentaram um GMD de 0,616 e 0,750 Kg/dia durante o experimento.¹ CSM no experimento levou em consideração todas as novilhas até a puberdade, no caso das que entraram. O CMS no experimento das novilhas dos tratamentos TGA e TGB que não entraram em puberdade foi calculado até elas serem abatidas aos 27 meses no tratamento TGA e 36 meses no tratamento TGB. A estimativa do CMS no experimento para as novilhas dos tratamentos PGB e TGB que foram para o pasto, foi feita de acordo com o CMS médio durante o experimento e multiplicado pelo tempo que permaneceu no pasto.

Figura 6 - Proporção cumulativa (%) de novilhas que atingiram a puberdade em cada tratamento até os 36 meses de idade

Legenda: Tratamentos – filhas de touro precoce com GMD elevado (PGA), filhas de touro precoce com GMD baixo (PGB), filhas de touro tardio com GMD elevado (TGA), filhas de touro tardio com GMD baixo (TGB). ^{a-b-c-d} Linhas acompanhadas de letras diferentes ($P < .0001$).

Não houve interação entre tratamento e tempo ($P = 0,8008$) na concentração de leptina. A concentração de leptina aumentou ($P = 0,0008$) com o passar da idade (Figura 7). Quanto a concentração de IGF-1, houve interação entre o tratamento e tempo ($P < 0,0001$). As novilhas filhas de touros precoces apresentaram maior concentração de IGF-1 do que novilhas filhas de touros tardios em todos os pontos analisados, ao se comparar dentro do mesmo GMD (Figura 8). Quanto às idades, houve um grande aumento do IGF-1 dos 9 até os 14 meses de idade nos tratamentos submetidos ao ritmo de crescimento elevado. Nos tratamentos submetidos ao GMD baixo, observa-se um lento e progressivo aumento na concentração de IGF-1 dos 9 até 24 meses de idade. A concentração de IGF-1 no momento da puberdade foi menor nas novilhas submetidas ao GMD elevado quando comparado com as novilhas do GMD baixo (Figura 8).

Figura 7 - Concentração sérica de leptina de acordo com os tratamentos aos 9,14, 24 e 28 meses de idade e na semana da primeira ovulação

Nota: Não houve interação tratamento e tempo ($P = 0,8008$). Houve efeito ($P = 0,0008$) do tempo na concentração de leptina. A concentração de leptina aumentou à medida que as novilhas foram ficando mais velhas. Tratamentos – filhas de touro precoce com GMD elevado (PGA), filhas de touro precoce com GMD baixo (PGB), filhas de touro tardio com GMD elevado (TGA), filhas de touro tardio com GMD baixo (TGB). A caixa de texto dentro da figura indica a concentração média de leptina das novilhas na semana da ovulação em cada tratamento. A concentração média de leptina das novilhas ovuladas no tratamento TGB foram retiradas da análise pois apenas 5 (5/13) novilhas entraram em puberdade.

Figura 8 - Concentração sérica de IGF-1 de acordo com os tratamentos aos 9,14, 24 e 28 meses de idade e na semana da primeira ovulação

Notas: Houve interação entre tratamento e tempo (GMD - $P < ,0001$). Tratamentos – filhas de touro precoce com GMD elevado (PGA), filhas de touro precoce com GMD baixo (PGB), filhas de touro tardio com GMD elevado (TGA), filhas de touro tardio com GMD baixo (TGB). A, B - Indicam diferença dentro de cada idade. a,b - Indicam diferença entre as idades. A caixa de texto dentro da figura indica a concentração média de IGF-1 das novilhas na semana da ovulação em cada tratamento. A concentração média de IGF-1 das novilhas ovuladas no tratamento TGB foram retiradas da análise pois apenas 5 (5/13) novilhas entraram em puberdade.

3.6 Discussão

A partir dos resultados deste estudo é possível observar a grande variabilidade na raça Nelore no que diz respeito a precocidade sexual. Os resultados obtidos com o tratamento PGA mostraram que é possível emprenhar novilhas Nelore sem o uso de protocolos de indução de puberdade até os 18 meses de idade, ou seja, até o fim da primeira estação reprodutiva, desde que seja utilizado novilhas proveniente de rebanhos precoces e em boas condições nutricionais. A diferença obtida entre os tratamentos PGB e TGB também é importante e com aplicabilidade imediata na pecuária de corte, uma vez que vários produtores já têm como meta emprenhar as novilhas ao redor dos 26 meses de idade (GUNSKI et al., 2001). No entanto, isso ainda não é uma realidade da pecuária nacional, na qual é comum a novilha emprenhar com mais de 3 anos de idade (GALINA; ARTHUR, 1989; GUNSKI et al., 2001; SERENO et al., 2001; ABCZ 2013).

A hipótese de que o GMD elevado não seria suficiente para induzir a puberdade em novilhas tardias até os 18 meses de idade e seria suficiente para acelerar o aparecimento da puberdade nas novilhas filhas de touro precoce foi aceita. No entanto, não foi aceita a hipótese de que as novilhas filhas de touros tardios e precoces submetidas ao baixo GMD apresentariam idades a puberdade semelhantes. Uma vez que 100% das novilhas precoces entraram em puberdade até os 3 anos de idade, e apenas 38% das novilhas filhas de touros tardios ficaram púberes na mesma idade, mesmo ambos os grupos apresentando o mesmo GMD.

Tanto o GMD elevado como no baixo o fator genético foi decisivo para o início da puberdade, sendo responsável por cerca de 5 meses de diferença entre os grupos precoce e tardio nas mesmas condições nutricionais. Pouco se sabe o porquê e como a genética influencia na puberdade. Por exemplo, Palmer e Boepple (2001) sugeriram que o controle genético sobre a puberdade é susceptível de um padrão de herança poligênica complexa. Várias pesquisas vêm tentando identificar os processos fisiológicos que levam a essa diferença. Por exemplo, Lampert et al. (2010) ao estudarem a diferença na idade à puberdade de peixes (*Xiphophorus nigrensis*) encontraram que a diferença na idade à puberdade dos machos era devida à expressão de Mc4r na hipófise anterior, na qual machos tardios apresentam receptores não funcionais de Mc4r, ao contrário dos precoces. Um dado importante deste estudo é que ambos os grupos apresentavam a mesma taxa de crescimento, o que levou ao aumento do tamanho adulto do macho tardio. A expressão do Mc4r está associada com a liberação de LH e FSH e ainda a produção de melanocortina está intimamente relacionada com o balanço energético do animal.

As novilhas filhas dos touros tardios submetidas ao GMD elevado permaneceram por 190 dias a mais no experimento e isso elevou em 114 Kg o peso à puberdade das novilhas do TGA. O tempo mais prolongado no experimento fez com que as novilhas do tratamento TGA apresentassem GMD menor (cerca de 100 g/dia) durante o experimento que o grupo PGA. No entanto, esse dado deve ser visto com cautela, pois, as novilhas filhas dos touros tardios (TGA) apresentaram GMD de $0,783 \pm 0,03$ Kg/dia aos 18 meses de idade, que é até numericamente maior que ao GMD das novilhas filhas de touros precoces à puberdade (PGA GMD = $0,749 \pm 0,03$ Kg/dia). O menor GMD até a puberdade das novilhas do tratamento TGA pode ser explicado pelo tempo prolongado de confinamento que mudou a composição de ganho corporal das novilhas, fazendo com que as novilhas

acumulassem mais gordura, por isso ficaram menos eficientes energeticamente. Isso ocorreu porque a curva de crescimento em bovinos é do tipo sigmoide e possui inclinação crescente do nascimento até a maturidade. Quando a energia não limita o crescimento, o peso corporal contém uma percentagem cada vez menor de proteína e uma percentagem cada vez maior de gordura (NRC, 1996). A gordura tem 9,367 Kcal/g de energia enquanto que tecidos não gordurosos apresentam em média 5,686 Kcal/g de energia (GARRETT et al., 1959).

As novilhas filhas de touros precoces apresentaram concentração de IGF-1 maior do que as tardias em todos os pontos analisados nos dois ritmos de crescimento, o que possibilita inferir que o IGF-1 está associado a fatores genéticos e pode ter contribuído para a antecipação da puberdade nas novilhas precoces. O IGF-1 é produzido em todos os tecidos do organismo, incluindo o cérebro e é capaz de estimular o aumento da expressão do gene KiSS-1 no hipotálamo nos centros reprodutivos em ratos (HINEY et al., 2009). É bem conhecido que o sistema KISS-1 / GPR54 exerce grande papel no controle da função reprodutiva e em especial na puberdade (LAPATTO et al., 2007). Ainda, a administração crônica de somatotropina recombinante bovina foi capaz de aumentar a concentração sérica de IGF-1 e com isso antecipar a puberdade em novilhas de corte (COOKE et al., 2013). Além do fator genético, o IGF-1 também sofreu impacto do ritmo de crescimento das novilhas. As novilhas submetidas ao ritmo de crescimento elevado apresentaram um grande aumento da IGF-1 dos 9 para os 14 meses de idade, influenciado pela dieta que continha cerca de 80% de concentrado, o que também coincide com o estirão de crescimento. Dietas ricas em concentrado fazem com que o animal apresente um aumento na concentração de insulina e essa por sua vez é necessária para estimular a produção de IGF-1 via expressão de receptores do hormônio de crescimento (BUTLER et al., 2003). Já o aumento lento da concentração de IGF-1 nas novilhas submetidas ao ritmo de crescimento baixo foi devido a dieta que continha 93% de foragens de baixa qualidade.

A concentração de leptina não foi influenciada pelos tratamentos, apenas aumentou com a idade das novilhas, mostrando que a concentração de leptina não é determinante para o aparecimento da puberdade. No entanto, isso não significa que a leptina não seja necessária. Existem diversos trabalhos que mostram o efeito da leptina nos sistemas neuronais responsáveis pela puberdade (MAGNI et al., 1999; WATANOBE, 2002; GAMBA et al., 2006; MACIEL et al., 2004; ROA et al., 2010). No

entanto, a administração crônica de leptina recombinante ovina foi eficiente em aumentar a concentração sérica de leptina, mas não aumentou a frequência de pulsos e a concentração de LH e não antecipou a puberdade em novilhas de corte (MACIEL et al., 2004). Ainda, a administração crônica de somatotropina recombinante bovina aumentou a concentração sérica de IGF-1 e antecipou a puberdade de novilhas de corte, mas a concentração de leptina e a espessura de gordura foram diminuídas com a aplicação de somatotropina recombinante bovina (COOKE et al., 2013). Assim, a leptina parece atuar mais como um sinal permissivo para que a fêmea entre na puberdade.

Há consenso na literatura que as novilhas apresentam puberdade e podem ser colocadas em estação de monta com 65 % do peso adulto (SHORT; BELLOWS, 1971; PATTERSON et al., 1992; GASSER 2013). O peso adulto da vaca Nelore é bastante variável, mas acredita-se que seja entre 400 e 500 kg (ROSA et al., 2000; ROSA et al., 2001). Rosa et al. (2001) avaliaram 34 rebanhos em 11 regiões do país e encontraram que o peso médio da vaca é 447 kg. Considerando 450 Kg o peso corporal da vaca Nelore média, o peso à puberdade de 367 ± 15 Kg das novilhas filhas dos touros precoces (PGA) representa cerca de 75 % do peso adulto e o peso a puberdade de 481 ± 14 Kg das novilhas filhas dos touros tardios (TGA) representa 106 % do peso adulto. Ou seja, não adianta a novilha atingir o peso corporal necessário para a puberdade se não estiver com idade suficiente, sendo assim o fator de maior impacto na idade a puberdade foi a genética, quando a novilha não tem seu crescimento restringido pela alimentação. Outro ponto importante é que com um ritmo de crescimento de cerca de 0,700 kg/dia é possível colocar as novilhas em estação de monta com 14 meses de idade, pois já apresentam mais 65% do peso adulto. Assim, podemos inferir que, a idade à puberdade na raça Nelore é mais importante que o peso corporal.

O efeito da genética na puberdade já é bem documentado, principalmente entre as raças de bovinos. No entanto, a diferença dentro da raça e sua interação com ritmos de crescimento ainda não foi bem documentada na raça Nelore. Talvez pelo fato que no Brasil não temos um sistema de criação de gado de corte bem definido. Apesar de vários relatos de que o fator genético explica boa parte da variação da idade à puberdade, como por exemplo em humanos (ZACHARIAS; WURTMAN 1969; FISCHBEIN 1977; KAPRIO et al., 1995). Temos um percentual grande de interferência do ambiente e talvez, neste ponto, o fator mais importante

sejam as condições nutricionais, como mostrado na comparação entre os dois GMD. A comparação dos resultados entre os planos nutricionais de 0,700 kg/dia e 0,300 kg/dia evidencia a importância da nutrição na puberdade. O grupo submetido ao GMD baixo mostrou que quando o desenvolvimento da novilha é comprometido, a idade à puberdade também é comprometida. Neste trabalho a magnitude dessa diferença foi de aproximadamente 1 ano quando comparada a idade à puberdade dos dois ritmos de crescimento. Isso ocorre pelo efeito dos sinais metabólicos nas vias neuronais, sendo os neurônios hipotalâmicos como o NPY, o peptídeo relacionado à cepa agouti (agRP), o POMC e a KISS-1 (como revisado por AMSTALDEN et al., 2011; PERRY, 2016) sensíveis a feedback negativos como exemplo a grelina (como revisado por ROA et al., 2010) e/ou a falta de feedback positivos como a insulina, IGF-1, leptina, entre outros. Os resultados da concentração de IGF-1 dos tratamentos mostram como o ritmo de crescimento impacta na puberdade, confirmando os relatos acima que o perfil metabólico tem efeito indireto na secreção de GnRH. Além do efeito sinérgico entre a IGF-1 e a leptina, ambos exercem um efeito nos neurônios citados acima (HINEY et al., 2009; ALVES et al., 2015; CARDOSO et al., 2015). Esses neurônios exercem um efeito (direto e ou indireto) na liberação de GnRH e, por conseguinte de LH, induzindo a puberdade.

Outro ponto interessante mostrado neste trabalho foi que durante os meses de junho, julho e agosto nenhuma novilha entrou em puberdade. E em setembro, houve aumento acentuado na proporção de novilhas que entraram em puberdade. Neste período começa a transição do inverno para a primavera, e os dias começam a ficar mais longos. Talvez haja efeito de fotoperíodo na puberdade de novilhas Nelore. Há na literatura descrição do efeito de dias longos na puberdade de novilhas zebuínas (HANSEN, 1985; SCHILLO et al., 1992), no entanto, mais estudos devem ser realizados para elucidar este fato.

3.7 Conclusão

A DEP para IPP foi o fator essencial para o aparecimento da puberdade, tanto no GMD elevado como no baixo. No entanto, depois da genética há a necessidade de um peso mínimo para o aparecimento da puberdade em novilhas Nelore.

4 EXPERIMENTO II – EFEITO DA DESMAMA PRECOCE E DA NUTRIÇÃO NO *IMPRINTING* METABÓLICO SOBRE A PUBERDADE DE NOVILHAS CRUZADAS (NELORE X ANGUS).

4.1 Introdução

O *Imprinting* metabólico é descrito como eventos que acontecem no início da vida do animal, cujas consequências fisiológicas vão aparecer a longo prazo (HANLEY, 2010). Esses eventos podem ser definidos como processos dinâmicos que estão associados com fenômenos que, às vezes, podem ser explicados por expressão genica mediada pela epigenética (HANLAY, 2010). A respeito do efeito do *imprinting* metabólico na puberdade de novilhas, acredita-se que perturbações durante o desenvolvimento inicial da novilha pode modificar o desenvolvimento neurológico (MANTZOROS et al., 1997; SUGDEN et al., 2001; HANLAY, 2010; STEVENS et al., 2011; UENOYAMA et al., 2016). Tem sido demonstrado que os padrões de transcrição genica podem ser alterados pela nutrição durante o início da vida, causando diferente funcionamento de, pelo menos, três chaves cruciais para o início da puberdade, são eles a kisspeptina (revisado por UENOYAMA et al., 2016), a leptina (SUGDEN et al., 2001; MANTZOROS et al., 1997) e o POMC (STEVENS et al., 2011). Assim, nesse trabalho foi considerado efeito de *imprinting* metabólico quando houve efeito do ritmo de crescimento dos 3 aos 7 meses de idade na puberdade das novilhas.

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm mostrado o efeito do *imprinting* metabólico causado pelo aumento do status metabólico ao redor dos 3 até os 7 meses de idade, e o seu impacto na puberdade de novilhas (GASSER et al., 2006a; CARDOSO et al., 2014; Moriel et al., 2014). A maioria dessas pesquisas tiveram como objetivo aumentar a frequência dos pulsos de LH que ocorrem na fase peripúbere. A alimentação das bezerras com dietas contendo alta inclusão de concentrado aliado com a desmama precoce acelera a maturidade ovariana (GASSER et al., 2006c), aumenta o diâmetro máximo dos folículos dominantes (GASSER et al., 2006c), aumenta a duração das ondas de desenvolvimento folicular

(GASSER et al., 2006c) e aumenta o pico de estradiol durante as ondas de desenvolvimento folicular (GASSER et al., 2006b). Assim, as estratégias nutricionais que visam *imprinting* metabólico possibilitam eliminar a fase estática durante a pré-puberdade, antecipando assim a puberdade das novilhas (GASSER et al., 2006a,b,c,d; DAY et al., 2010).

O cruzamento Angus x Nelore obtido pela IA de vacas Nelore com sêmen de touro da raça Angus tem crescido enormemente no Brasil, isso pode ser comprovado pelo crescimento em 108% na venda de doses de sêmen da raça Angus de 2009 a 2011 (ASBIA, 2011). No entanto, temos poucos dados de pesquisas na área de reprodução e especificamente em puberdade de novilhas cruzadas Angus x Nelore. Os dados que encontramos na literatura sobre puberdade são provenientes de novilhas Angus ou cruzadas, mas sem utilizar a raça Nelore. O uso de técnicas que causaram *imprinting* metabólico em novilhas Angus e em cruzadas mostrou-se eficiente em adiantar a puberdade, como demonstrado nos trabalhos de Gasser et al. (2006), Moriel et al. (2014) e Cardoso et al. (2014).

4.2 Hipóteses

- O GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade causa *imprinting* metabólico em novilhas cruzadas, o que anteciparia a puberdade quando comparadas com as novilhas submetidas ao GMD elevado somente após os 7 meses.
- As bezerras submetidas ao GMD elevado dos 3 meses de idade até a puberdade atingirão a puberdade mais cedo, quando comparadas com os outros tratamentos.

4.3 Objetivos

Avaliar o efeito do ritmo de crescimento dos 3 aos 7 meses idade e após os 7 meses de idade na idade à puberdade de novilhas cruzadas (Nelore x Angus).

4.4 Materiais e Métodos

O experimento foi realizado nas instalações experimentais do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal – LNRA, no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, situada no município de Piracicaba - SP.

Foram utilizadas 38 bezerras cruzadas (Angus x Nelore), desmamadas com 3 meses de idade, filhas de um único touro. No início do experimento, as bezerras foram pesadas e então distribuídas nos tratamentos.

O experimento foi dividido em duas fases experimentais, sendo a fase 1 dos 3 aos 7 meses de idade e a fase 2 dos 7 meses de idade até a puberdade. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, no qual o fator 1 foi o GMD elevado e GMD médio na fase 1 e o fator 2 foi também o GMD elevado e GMD médio na fase 2. Formando os seguintes tratamentos: Bezerras cruzadas submetidas ao GMD elevado na fase 1 e 2 (CAA n = 10); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (CAM = 10); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (CMA = 9); GMD médio na fase 1 e 2 (CMM = 9) (Figura 9).

Figura 9 - Esquema dos tratamentos em arranjo fatorial

Nota: Fator 1: Ganho médio diário (GMD) elevado e médio dos 3 aos 7 meses de idade (Fase 1); Fator 2: GMD elevado e médio dos 7 meses de idade até a puberdade (Fase 2); Tratamentos: Novilhas cruzadas submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2 (CAA); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (CAM); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (CMA); GMD médio nas fases 1 e 2 (CMM).

A dieta dos grupos de GMD elevado e médio apresentavam a mesma composição, o que variou foi a quantidade de MS ofertada para cada tratamento a fim de obter o GMD proposto. O GMD elevado consistiu em fornecer a dieta *ad libitum* e o GMD médio foi obtido submetendo as novilhas a cerca de metade do consumo de matéria seca (CMS) do GMD elevado. A dieta foi formulada para fornecer 19 % de PB durante fase 1 e 14% de PB durante a fase 2 (Tabela 3).

Tabela 3 - Ingredientes e composição química das dietas segundo o período experimental

Ingredientes (% da MS)	Composição das Dietas	
	Fase 1	Fase 2
Feno	20,0	0
Bagaço de cana de açúcar	0	18,0
Caroço de Algodão	0	10,1
Farelo de Milho	57,5	59,1
Farelo de Soja	21,0	10,7
Ureia	0	0,5
Mistura Mineral	1,5	1,5
PB (% da MS)	19,0	14,9
FDN (% da MS)	34,0	37,0
NDT (% da MS)	74,0	70,0

Nota: Fase 1 - dos 3 aos 7 meses de idade; Fase 2 - dos 7 meses de idade até a puberdade. MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra detergente neutro; NDT: Nutrientes digestíveis totais; os valores de PB, FDN e NDT foram calculados através do NRC (1996). As novilhas receberam suplemento mineral *ad libitum* em cocho separado.

As bezerras foram alojadas em baias coletivas, sendo 5 novilhas por baia quando estavam em dietas *ad libitum* e de 2 novilhas por baia quando estavam em período de restrição alimentar. As novilhas foram alimentadas uma vez ao dia, pela manhã, utilizando um vagão de mistura total equipado com balança eletrônica. O CMS das novilhas submetidas ao GMD médio foi regulado semanalmente por meio de restrição do CMS, de acordo com o GMD da semana anterior a fim de obter o GMD proposto, cerca de metade do grupo submetido ao ritmo de crescimento elevado. O cálculo do CMS foi realizado tendo como parâmetro cada baia.

Semanalmente, todas as novilhas passaram por pesagem, colheita de sangue para dosagem de progesterona para confirmar a puberdade. Os ovários foram avaliados quanto a presença de um CL (corpo lúteo) por ultrassonografia (US) dos 8 meses de idade até a puberdade. A novilha foi considerada púbere quando foi detectado um CL por US e confirmada pela dosagem de progesterona da semana em que foi visto o CL e da semana anterior, sendo a concentração de progesterona maior que 1 ng/mL na semana de detecção do CL e menor que 1 ng/mL na semana anterior. Antes de cada pesagem, as novilhas ficavam em jejum sólido por 16 horas.

As novilhas permaneceram neste esquema até atingirem puberdade, à medida que foram entrando em puberdade foram retiradas do experimento.

A dosagem de progesterona foi realizada por quimioluminescência automatizada com a utilização de kits comerciais para IMMULITE® 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA). Os coeficientes de variação foram 5,7% e 3,4% para o ajuste alto e baixo, respectivamente, e a sensibilidade do teste foi de 0,46 ng/mL.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, no qual cada novilha foi considerada com unidade experimental para as variáveis peso inicial, peso aos 7 meses, peso à puberdade, GMD na fase 1, GMD na fase 2, idade à puberdade. Para as avaliações de CMS, CMS no experimento foram consideradas as baias como unidade experimental. As variáveis contínuas foram analisadas pelo procedimento MIXED. Antes, porém da análise pelo MIXED foi verificado a normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e normalidade das variâncias (Welch) dos dados. Nos casos que houve efeito da interação entre os fatores, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de PDIFF, ao nível de 5 % de significância.

A taxa de puberdade foi analisada por curva de sobrevivência feita utilizando o procedimento LIFETEST e foi utilizado o teste LOGRANK para determinar a diferença entre as curvas de sobrevivência de cada tratamento.

4.5 Resultados

As bezerras foram desmamadas com 92 ± 2 dias de idade (3 meses) e peso corporal de 90 ± 1 Kg. Aos 7 meses de idade, o GMD elevado na fase 1 tornou as bezerras cerca de 60 kg mais pesadas do que as bezerras submetidas ao GMD médio, essa diferença de peso foi induzida pelo menor CMS das bezerras submetidas à restrição alimentar (Tabela 4).

Tabela 4 - Desempenho das bezerras cruzadas (Angus x Nelore) durante a fase 1

	TRATAMENTOS		P-valor
	GMD Elevado	GMD Médio	F1
Idade Inicial, dia	92 ± 2	92 ± 2	0,4387
Peso Inicial, Kg	90 ± 1	91 ± 1	0,4110
Peso aos 7 meses, Kg	215 ± 9	157 ± 4	<,0001
GMD, Kg	0,989 ± 0,06	0,509 ± 0,03	<,0001
CMS, Kg/dia	4,9 ± 0,1	1,8 ± 0,03	0,0002
CMS total, Kg	596 ± 53	215 ± 30	<,0001

Nota: Fase 1 – dos 3 aos 7 meses de idade; GMD – Ganho médio diário; CMS – Consumo de matéria seca; CMS total – consumo de matéria seca durante a fase 1.

Durante a fase 2 do experimento, o CMS foi maior ($P = <,0001$) no tratamento CAA em comparação com os outros tratamentos (Tabela 5) e o CMS dos tratamentos CAM e CMM foi semelhante. Ainda, houve interação ($P = 0,0021$) entre as fases 1 e 2 do experimento no CMS total durante a fase 2, sendo que as novilhas submetidas ao tratamento CAM apresentaram o menor CMS total nesta fase (Tabela 5).

Tabela 5 - Desempenho das novilhas cruzadas (Angus x Nelore) durante a fase 2 do experimento

	TRATAMENTOS				P-valor		
	CAA	CAM	CMA	CMM	F1	F2	F1*F2
Peso aos 7 meses, Kg	214 ± 9	216 ± 8	157 ± 3	157 ± 6	<,0001	.	.
GMD, Kg	0,810 ± 0,03	0,509 ± 0,03	1,022 ± 0,03	0,697 ± 0,03	<,0001	<,0001	0,7398
CMS, Kg/dia	7,5 ^a ± 0,1	4,0 ^c ± 0,05	7,0 ^b ± 0,09	4,2 ^c ± 0,06	<,0001	<,0001	0,0453
CMS total, Kg	1182 ^a ± 62	675 ^c ± 29	1118 ^a ± 31	923 ^b ± 53	0,0589	<,0001	0,0021

Nota: GMD – Ganho médio diário; CMS – Consumo de matéria seca; CMS total – CMS durante o segundo período do experimento. Tratamentos: Novilhas cruzadas submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2 (CAA); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (CAM); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (CMA); GMD médio nas fases 1 e 2 (CMM). F1 – Efeito do fator 1 – GMD elevado e médio dos 3 aos 7 meses de idade (fase 1); F2 – Efeito do Fator 2 - GMD elevado e médio dos 7 meses de idade até a puberdade (fase 2); F1*F2 – Efeito da interação entre F1 e F2

Todas as novilhas apresentaram puberdade até os 16 meses de idade. As novilhas começaram a apresentar puberdade com 11 meses de idade e todas as novilhas dos tratamentos CAA, CAM e CMA atingiram a puberdade até 14 meses de idade (Figura 10). Com isso, houve interação ($P = 0,009$) entre os tratamentos e a idade na puberdade, na qual as novilhas dos tratamentos CAA, CAM e CMA apresentaram puberdade na mesma idade (Tabela 6). Além disso, o comportamento das curvas de puberdade desses três tratamentos foi semelhante (Figura 10). Apenas o tratamento CMM atrasou a puberdade em cerca de 2 meses em relação aos outros três tratamentos.

O ritmo de crescimento elevado na fase 2 fez com que as novilhas entrassem em puberdade mais pesadas ($P = 0,0379$). As novilhas cruzadas que foram submetidas ao ritmo de crescimento elevado (CAA) dos 3 meses de idade até a puberdade consumiram cerca de 0,5 tonelada de MS a mais em comparação com as novilhas que ganharam cerca de 0,500 kg/dia (CMM).

Tabela 6 – Desempenho das novilhas cruzadas (Angus x Nelore) durante o experimento (fase 1 e fase 2)

	TRATAMENTOS				P-valor		
	CAA	CAM	CMA	CMM	F1	F2	F1*F2
Peso na puberdade, Kg	341 ± 13	301 ± 11	319 ± 8	310 ± 10	0,5947	0,0379	0,1844
Idade na puberdade, meses	12,2 ^a ± 0,3	12,6 ^a ± 0,2	12,4 ^a ± 0,1	14,4 ^b ± 0,4	0,002	0,0003	0,009
CMS total, Kg	1.778 ^a ± 62	1.272 ^{bc} ± 29	1.333 ^b ± 31	1.138 ^c ± 53	<,0001	<,0001	0,0345
Puberdade, %	100 (10/10)	100 (10/10)	100 (9/9)	100 (9/9)			

Nota: CMS total – consumo de matéria seca durante o experimento. Tratamentos: Novilhas cruzadas submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2 (CAA); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (CAM); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (CMA); GMD médio nas fases 1 e 2 (CMM). F1 – Efeito do fator 1 – GMD elevado e médio dos 3 aos 7 meses de idade (fase 1); F2 – Efeito do Fator 2 - GMD elevado e médio dos 7 meses de idade até a puberdade (fase 2); F1*F2 – Efeito da interação entre F1 e F2.

Figura 10 – Porcentagem acumulada do aparecimento da puberdade em novilhas cruzadas (Angus x Nelore) em cada tratamento

Nota: Tratamentos: Novilhas cruzadas submetidas ao GMD elevado dos 3 meses de idade até a puberdade (CAA); GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade e GMD médio dos 7 meses de idade até a puberdade (CAM); GMD médio dos 3 aos 7 meses de idade e GMD elevado dos 7 meses de idade até a puberdade (CMA); GMD médio dos 3 meses de idade até a puberdade (CMM). ^{a-b} Linhas acompanhadas de letras diferentes indica diferença estatística ($P = 0,0021$). As novilhas completaram 12 meses de idade no mês de dezembro

4.6 Discussão

Não foi observado efeito do *imprinting* metabólico na puberdade das novilhas cruzadas, uma vez que o ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 7 meses de idade não impactou a puberdade das novilhas. O fator decisivo para as novilhas entrarem em puberdade neste experimento foi a idade, uma vez que as novilhas dos tratamentos CAA, CAM e CMA apresentaram puberdade em idades semelhantes, mas com pesos diferentes, rejeitando assim todas as duas hipóteses formuladas no início do experimento. No entanto, o ritmo de ganho de peso foi um fator limitante para a puberdade, uma vez que, as novilhas do tratamento CMM apresentaram puberdade cerca de 2 meses mais tarde comparado com os outros tratamentos.

As novilhas cruzadas apresentaram GMD perto de 1 kg e consumiram cerca de 3,2% do peso corporal dos 3 aos 7 meses de idade. Nos trabalhos que mostraram o efeito do *imprinting* metabólico antes dos 7 meses de idade na puberdade, as bezerras apresentaram GMD em torno de 1 Kg e consumiram cerca de 3% (GASSER et al., 2006) a 3,5% (Moriel et al., 2014) do peso corporal. Mesmo as novilhas cruzadas apresentando desempenho semelhante durante o período de *imprinting* nos trabalhos Gasser et al. (2006) e Moriel et al. (2014) não foi observado efeito do *imprinting* metabólico.

Um diferencial importante deste trabalho foi que todas as novilhas eram filhas do mesmo touro e as mães também eram do mesmo rebanho, esse fator levou à homogeneidade dos dados obtidos nesse estudo. Por exemplo, a curva de puberdade do grupo que sempre foi alimentado *ad libitum* ocorreu dos 11 aos 13 meses de idade, ou seja, todas novilhas apresentaram puberdade com diferença de 2 meses de idade. Trabalhos similares a esse mostraram intervalo de puberdade nos grupos alimentados *ad libitum* de 4 (MORIEL et al., 2014), 5 (CARDOSO et al., 2014) e até 8 (GASSER et al., 2006d) meses de idade. A homogeneidade das novilhas desse trabalho permite um isolamento maior do efeito nutricional sobre a puberdade. Além disso, o touro Angus utilizado foi um touro tardio para os padrões da raça Angus (DEP para perímetro escrotal encontra-se no percentil 90% segundo a American Angus Association). O nosso grupo de pesquisa mostrou que o efeito da genética é o fator mais importante para a puberdade em novilhas Nelore

(NEPOMUCENO, 2013; dados capítulo 2). Talvez o *imprinting* metabólico seja mais evidente em novilhas precoces. Nas novilhas cruzadas, o fator determinante para a novilha entrar na puberdade foi a idade. O aumento do peso corporal neste experimento com novilhas cruzadas filhas de um touro tardio corroboram com os dados encontrados no capítulo 2 da tese e com os dados de Nepomuceno et al. (2013), no qual as novilhas filhas de touros tardios submetidas à um ritmo de crescimento de cerca de 0,700 Kg/dia não apresentou puberdade precoce, e tiveram o peso na puberdade aumentado quando comparadas com as novilhas filhas de touros precoces.

O maior peso corporal das novilhas cruzadas dos tratamentos CAA e CMA não foram suficientes para adiantar a idade a puberdade em novilhas cruzadas. Isso fez com que as novilhas desses tratamentos entrassem em puberdade mais pesadas, pois apresentaram maior CMS. A magnitude dessa ineficiência foi de cerca de 0,5 t de MS por novilha. O aumento do peso à puberdade ficou evidenciado em vários trabalhos que submeteram as novilhas a um GMD elevado. Por exemplo, Barcellos et al. (2014) aumentaram cerca de 70 Kg de peso corporal à puberdade quando o GMD foi elevado de 0,500 Kg para 1,250 Kg em novilhas meio sangue Nelore x Hereford. Da mesma forma, Gasser et al. (2006a) aumentaram em 73 Kg de peso corporal na puberdade quando elevou o GMD de 0,850 para 1,270 Kg em novilhas Angus. Resultados semelhantes foram observados por Lardner et al. (2014), que observaram um aumento de cerca de 50 Kg de peso corporal na puberdade quando o GMD das novilhas foi elevado de 0,500 para 0,700 Kg e essa diferença não comprometeu os índices produtivos e reprodutivos avaliados até o segundo parto, mas aumentou o custo em cerca de US\$ 60 por novilha.

O aumento exagerado do GMD antes da idade mínima para a novilha entrar em puberdade pode fazer com que as novilhas sejam menos eficientes, devido ao aumento do peso à puberdade o que pode levar ao aumento do peso adulto, aumentando assim sua exigência de manutenção (JENKINS; FERRELL, 1993). As novilhas submetidas ao ritmo de crescimento elevado apresentaram maior CA (dados não mostrados) pois passaram pela fase de crescimento e entraram na fase de terminação, ou seja, acúmulo de gordura. Isso é importante porque existe uma relação positiva entre o aumento do peso à puberdade com o aumento do peso adulto ($y = 1,0356 x - 209,56$, $r^2 = 0,6183$) (JENKINS; FERRELL, 1993). O peso

adulto da vaca de corte está relacionado ao custo de manutenção, à taxa de maturidade, à eficiência reprodutiva e, em última instância, à eficiência econômica dos sistemas de produção (CARTWRIGHT, 1979). Ainda, o aumento do ritmo de crescimento não adiantou a puberdade, tornando as novilhas do tratamento CAA menos eficientes, uma vez que apresentaram maior CMS.

Na comparação entre os tratamentos CAA e CMA ficou evidenciado o efeito do ganho compensatório no GMD. Aos 7 meses de idade, as novilhas do tratamento CAA pesavam 60 kg a mais do que as novilhas do CMA. Essa diferença de peso levou as novilhas do CAA consumirem 0,8 kg de MS/dia à mais que as novilhas do CMA. No entanto, mesmo com menor CMS as novilhas do tratamento CMA ganharam cerca de 0,200 Kg/dia a mais que as novilhas do CAA. Nas novilhas cruzadas o crescimento compensatório não influenciou a idade à puberdade. Os dados de Cardoso et al. (2014) corroboram com a possibilidade de utilização do crescimento compensatório como estratégia nutricional sem afetar a idade na puberdade. Esses autores submeteram novilhas de corte a GMD de 1 kg dos 3,5 até os 14 meses e compararam com novilhas com alimentação ad libitum no mesmo período, exceto entre os 6,5 até 9 meses, período que ganharam 0,350 Kg. Neste estudo não houve diferença na porcentagem de novilhas púberes com 1 ano de idade, mostrando a possibilidade de trabalho com períodos de restrição alimentar durante o período de cria e recria das novilhas sem prejuízo na idade a puberdade. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito do ganho compensatório sobre a puberdade.

4.7 Conclusão

Em novilhas cruzadas (Angus x Nelore), o ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 7 meses de idade não causou *imprinting* metabólico, pois não houve antecipação da puberdade. A comparação entre os tratamentos CAM e CMA mostrou que a restrição em um dos dois períodos não altera a idade à puberdade. O tratamento CMM atrasou a puberdade em cerca de 2 meses, mas as novilhas

apresentaram o menor CMS do experimento quando comparado com os demais tratamentos.

5 EXPERIMENTO III – EFEITO DA DESMAMA PRECOCE E DA NUTRIÇÃO NO *IMPRINTING* METABÓLICO SOBRE A PUBERDADE DE NOVILHAS NELORE.

5.1 Introdução

O *Imprinting* metabólico é descrito como eventos que acontecem no início da vida do animal, cujas consequências fisiológicas vão aparecer a longo prazo (HANLEY, 2010). Esses eventos podem ser definidos como processos dinâmicos que estão associados com fenômenos que, às vezes, podem ser explicados por expressão genica mediada pela epigenética (HANLAY, 2010). A respeito do efeito do *imprinting* metabólico na puberdade de novilhas, acredita-se que perturbações durante o desenvolvimento inicial da novilha pode modificar o desenvolvimento neurológico (MANTZOROS et al., 1997; SUGDEN et al., 2001; HANLAY, 2010; STEVENS et al., 2011; UENOYAMA et al., 2016). Tem sido demonstrado que os padrões de transcrição genica podem ser alterados pela nutrição durante o início da vida, causando diferente funcionamento de, pelo menos, três chaves cruciais para o início da puberdade, são eles a kisspeptina (revisado por UENOYAMA et al., 2016), a leptina (SUGDEN et al., 2001; MANTZOROS et al., 1997) e o POMC (STEVENS et al., 2011). Assim, nesse trabalho foi considerado efeito de *imprinting* metabólico quando houve efeito do ritmo de crescimento do 3 aos 7 meses de idade na puberdade das novilhas.

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm mostrado o efeito do *imprinting* metabólico causado pelo aumento do status metabólico ao redor dos 3 até os 7 meses de idade, e o seu impacto na puberdade de novilhas da raça Angus e novilhas cruzadas (GASSER et al., 2006a; CARDOSO et al., 2014; Moriel et al., 2014). A maioria dessas pesquisas tiveram como objetivo aumentar a frequência dos pulsos de LH que ocorrem na fase peripúbere. A alimentação das bezerras com dietas contendo alta inclusão de concentrado aliado com a desmama precoce acelerou da maturidade ovariana (GASSER et al., 2006c), aumentou o diâmetro máximo dos folículos dominantes (GASSER et al., 2006c), aumentou a duração das ondas de desenvolvimento folicular (GASSER et al., 2006c) e aumentou o pico de

estradiol durante as ondas de desenvolvimento folicular (GASSER et al., 2006b). Assim, as estratégias nutricionais que visam *imprinting* metabólico possibilitam eliminar a fase estática durante a pré-puberdade, antecipando assim a puberdade das novilhas (GASSER et al., 2006a,b,c,d; DAY et al., 2010).

Neste sentido há evidências do efeito do *imprinting* metabólico durante as fases iniciais do desenvolvimento, no qual um ritmo de crescimento elevado pode acelerar a puberdade de novilhas. Contudo, a maior parte dos trabalhos, principalmente, avaliando o efeito da nutrição na puberdade são em raças taurinas e, não temos relatos do efeito do *imprinting* metabólico em novilhas Nelore.

5.2 Hipóteses

- O GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade causa *imprinting* metabólico em novilhas Nelore, o que anteciparia a puberdade quando comparadas com as novilhas submetidas ao GMD elevado somente após os 7 meses.
- As bezerras submetidas ao GMD elevado dos 3 meses de idade até a puberdade atingirão a puberdade mais cedo, quando comparadas com os outros tratamentos.

5.3 Objetivos

Avaliar o efeito do ritmo de crescimento dos 3 aos 7 meses idade e após os 7 meses de idade na idade à puberdade de novilhas Nelore.

5.4 Materiais e Métodos

O experimento foi realizado nas instalações experimentais do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal – LNRA, no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, situada no município de Piracicaba - SP.

Foram utilizadas 48 bezerras Nelore, desmamadas com 3 meses de idade, filhas de um único touro. No início do experimento, as bezerras foram pesadas e então distribuídas nos tratamentos.

O experimento foi dividido em duas fases experimentais, sendo a fase 1 dos 3 aos 7 meses de idade e a fase 2 dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade no caso das novilhas que atingiram a puberdade antes dos 19 meses de idade. O período experimental compreendeu os períodos da fase 1 e 2. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, no qual o fator 1 foi GMD elevado e médio na fase 1 e o fator 2 foi também GMD elevado e médio na fase 2, formando os seguintes tratamentos: Novilhas Nelore submetidas ao GMD elevado durante a fase 1 e 2 (NAA n = 13); GMD elevado durante a fase 1 e GMD médio durante a fase 2 (NAM = 10); GMD médio durante a fase 1 e GMD elevado durante a fase 2 (NMA = 13); GMD médio durante as fases 1 e 2 (NMM = 12) (Figura 11).

Figura 11 - Esquema dos tratamentos em arranjo fatorial

Nota: Fator 1: Ganho médio diário elevado e médio (GMD) dos 3 aos 7 meses de idade (Fase 1); Fator 2: GMD elevado e médio dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade no caso das que entraram antes dos 19 meses de idade (Fase 2); Tratamentos: Novilhas Nelore submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2 (NAA); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (NAM); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (NMA); GMD médio nas fases 1 e 2 (NMM).

A dieta dos grupos de GMD elevado e médio apresentavam a mesma composição, variando a quantidade de MS ofertada para cada tratamento a fim de obter o GMD proposto. O GMD elevado consistiu em fornecer a dieta *ad libitum* para as novilhas e o GMD médio foi obtido submetendo as novilhas a cerca de metade do consumo de matéria seca (CMS) do GMD elevado. A dieta foi formulada para fornecer 19% de PB durante fase 1 e 14% de PB durante a fase 2 (Tabela 7).

Tabela 7 - Ingredientes e composição química das dietas segundo o período experimental

Ingredientes (% da MS)	Composição das Dietas	
	Fase 1	Fase 2
Feno	20,0	0
Bagaço de cana de açúcar	0	20,0
Farelo de Milho	57,5	62,5
Farelo de Soja	21,0	16,0
Mistura Mineral	1,5	1,5
PB (% da MS)	19,0	14,0
FDN (% da MS)	24,0	24,0
NDT (% da MS)	79,0	78,6

Nota: Fase 1 - dos 3 aos 7 meses de idade; Fase 2 - dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade no caso das novilhas que entraram antes.; MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra detergente neutro; NDT: Nutrientes digestíveis totais; os valores de PB, FDN e NDT foram calculados através do NRC (1996).

As bezerras foram alojadas em baias coletivas, sendo 4 novilhas por baia quando estavam em dietas *ad libitum* e de 2 novilhas por baia quando estavam em período de restrição alimentar. As novilhas foram alimentadas uma vez ao dia, pela manhã, utilizando um vagão de mistura total equipado com balança eletrônica. O CMS das novilhas submetidas ao GMD médio foi regulado semanalmente por meio de restrição do CMS, de acordo com o GMD da semana anterior a fim de obter o GMD proposto, cerca de metade do grupo submetido ao ritmo de crescimento elevado. O cálculo do CMS foi realizado tendo como parâmetro cada baia.

Semanalmente, todas as novilhas passaram por pesagem, colheita de sangue para dosagem de progesterona para confirmar a puberdade. Os ovários foram avaliados quanto a presença de um CL (corpo lúteo) por ultrassonografia (US) dos 8 meses de idade até a puberdade. A novilha foi considerada púbere quando foi detectado um CL por US e confirmada pela dosagem de progesterona da semana em que foi visto o CL e da semana anterior, sendo a concentração de progesterona maior que 1 ng/mL na semana de detecção do CL e menor que 1 ng/mL na semana anterior. Antes de cada pesagem, as novilhas ficavam em jejum sólido por 16 horas.

A dosagem de progesterona foi realizada por quimioluminescência automatizada com a utilização de kits comerciais para IMMULITE® 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA). Os coeficientes de variação foram 5,7%

e 3,4% para o ajuste alto e baixo, respectivamente, e a sensibilidade do teste foi de 0,46 ng/mL.

O experimento terminou aos 19 meses porque as novilhas Nelore são mais tardias e baseado em experimentos anteriores feitos pelo nosso grupo de pesquisa, as novilhas Nelore submetidas ao mesmo manejo e nutrição não entraram em puberdade nos meses de junho, julho e agosto. As novilhas Nelore que não entraram em puberdade passaram por indução da puberdade com a colocação de um implante de progesterona (CIDR®, Zoetis Saúde Animal) já previamente utilizado por 21 dias. As novilhas permaneceram com o implante por 10 dias e a indução da puberdade foi avaliada 10 dias após a remoção do dispositivo.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, no qual cada novilha foi considerada com unidade experimental para as variáveis peso inicial, peso aos 7 meses, peso à puberdade, GMD na fase 1, GMD na fase 2, idade à puberdade. Para as avaliações de CMS, CMS no experimento foram consideradas as baias como unidade experimental. As variáveis contínuas foram analisadas pelo procedimento MIXED. Antes, porém da análise pelo MIXED foi verificado a normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e normalidade das variâncias (Welch) dos dados. Nos casos que houve efeito da interação entre os fatores, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo PDIFF, ao nível de 5 % de significância.

A taxa de puberdade foi analisada por curva de sobrevivência feita utilizando o procedimento LIFETEST e foi utilizado o teste LOGRANK para determinar a diferença entre as curvas de sobrevivência de cada tratamento.

5.5 Resultados

As bezerras foram desmamadas com 88 ± 2 dias de idade e com peso corporal de 84 ± 2 Kg. O ritmo de crescimento elevado tornou as novilhas cerca de 35 kg mais pesadas aos 7 meses de idade do que novilhas que passaram por restrição durante a fase 1 (Tabela 8). Conforme esperado, o CMS foi 60% menor nas novilhas submetidas ao médio GMD.

Tabela 8 - Desempenho das bezerras Nelore durante a fase 1

	TRATAMENTOS		P-valor
	GMD Elevado	GMD Médio	F1
Idade Inicial, d	88 ± 2	88 ± 2	0,7991
Peso Inicial, Kg	83 ± 2	85 ± 2	0.2801
Peso aos 7 meses, Kg	180 ± 17	145 ± 20	<,0001
GMD, Kg	0,787 ± 0,03	0,448 ± 0,03	<,0001
CMS, Kg/dia	4.0 ± 0,1	1,6 ± 0,03	<,0001
CMS total, Kg	502 ± 50	195 ± 32	<,0001

Nota: Fase 1 – dos 3 aos 7 meses de idade; GMD – Ganho médio diário; CMS – Consumo de matéria; CMS total – consumo de matéria seca durante a fase 1.

Da mesma forma, a fase 2 também induziu menor ($P < 0,0001$) GMD das novilhas Nelore submetidas à restrição do CMS. No entanto, houve interação ($P < 0,0001$) entre as fases 1 e 2 no CMS das novilhas. O CMS durante a fase 2 foi maior no tratamento NAA em comparação com os tratamentos NAM, NMA e NMM (Tabela 9), e o CMS dos tratamentos NAM e NMM foram semelhantes na fase 2.

Tabela 9 - Desempenho das novilhas Nelore durante a fase 2 do experimento

	TRATAMENTOS				P-valor		
	NAA	NAM	NMA	NMM	F1	F2	F1*F2
Peso aos 7 meses, Kg	183 ± 21	180 ± 15	144 ± 10	145 ± 20	<,0001	.	.
GMD, Kg	0,674 ± 0,02	0,524 ± 0,02	0,717 ± 0,02	0,520 ± 0,02	0,3925	<,0001	0,2824
CMS, Kg/dia	5,5 ^a ± 0,1	2,9 ^c ± 0,05	4,7 ^b ± 0,09	3,1 ^c ± 0,06	<,0001	<,0001	0,0520
CMS total, Kg	1420 ± 75	938 ± 85	1562 ± 78	1164 ± 75	0,0237	<,0001	0,5954

Nota: GMD – Ganho médio diário; CMS – Consumo de matéria seca; CMS total – CMS durante a fase 2. Tratamentos: Novilhas Nelore submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2 (NAA); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (NAM); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (NMA); GMD médio nas fases 1 e 2 (NMM). F1 – Efeito do fator 1 – GMD elevado e médio dos 3 aos 7 meses de idade (fase 1); F2 – Efeito do Fator 2 - GMD elevado e médio dos 7 meses de idade até a puberdade no caso das novilhas que entraram antes dos 19 meses de idade (Fase 2); F1*F2 – Efeito da interação entre F1 e F2.

A taxa de puberdade até os 19 meses de idade foi influenciada ($P = 0,0145$) pelos tratamentos (Tabela 10; Figura 12). O tratamento NAA (84%) induziu maior ($P = 0,0145$) proporção de novilhas púberes do que o NMM (23%), mas não houve diferença na taxa de puberdade entre os tratamentos NAM (60%) e NMA (50%). Além disso, o comportamento das curvas de puberdade dos tratamentos NAM e NMA foram semelhantes (Figura 12), sendo assim não houve efeito de *imprinting* metabólico nas novilhas Nelore.

As novilhas que não entraram em puberdade até os 19 meses de idade nos tratamentos NAA, NAB e NBA apresentavam peso numericamente maior do que as novilhas púberes no seu respectivo tratamento. Apenas as novilhas do tratamento NMM (330 ± 9 Kg) estavam mais leves do que as novilhas que entraram (346 ± 7 kg) em puberdade do mesmo tratamento (Tabela 11).

Tabela 10 – Desempenho das novilhas Nelore durante todo o experimento

	TRATAMENTOS				P-valor		
	AA	AM	MA	MM	F1	F2	F1*F2
Peso na puberdade, kg	345 ± 11	325 ± 12	333 ± 17	346 ± 7	0,7820	0,8045	0,3042
Idade na puberdade, meses	14,5 ± 0,4	16,0 ± 0,5	15,6 ± 0,5	17,6 ± 0,7	0,0253	0,0066	0,6444
CMS total, kg	1.992 ± 75	1.440 ± 85	1.758 ± 78	1.360 ± 75	0,1283	<,0001	0,5954
Puberdade, %	84 (11/13)	60 (6/10)	50 (6/12)	23 (3/13)			

Nota: CMS total – consumo de matéria seca durante as fases 1 e 2 do experimento. Tratamentos: Novilhas Nelore submetidas ao GMD elevado nas fases 1 e 2 (NAA); GMD elevado na fase 1 e GMD médio na fase 2 (NAM); GMD médio na fase 1 e GMD elevado na fase 2 (NMA); GMD médio nas fases 1 e 2 (NMM). F1 – Efeito do fator 1 – GMD elevado e médio dos 3 aos 7 meses de idade (fase 1); F2 – Efeito do Fator 2 - GMD elevado e médio dos 7 meses de idade até a puberdade no caso das novilhas que entraram antes dos 19 meses de idade (Fase 2); F1*F2 – Efeito da interação entre F1 e F2.

Figura 12 - Porcentagem acumulada do aparecimento da puberdade nas novilhas Nelore de acordo com cada tratamento

Nota: Tratamentos: Novilhas Nelore submetidas ao GMD elevado dos 3 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NAA); GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade e GMD médio dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NAM); GMD médio dos 3 aos 7 meses de idade e GMD elevado dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NMA); GMD médio dos 3 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NMM).^{a-b} Linhas acompanhadas de letras diferentes diferem entre si (P = 0,0145). As novilhas completaram 12 meses de idade no mês de dezembro.

Nos meses de junho e julho nenhuma novilha Nelore entrou em puberdade (Figura 12). Assim, aos 19 meses de idade, a indução da puberdade com progesterona nas novilhas Nelore foi eficiente em induzir cerca de 70% de puberdade (Tabela 11). As novilhas dos tratamentos NAA e NMA apresentaram o maior peso ($P = 0,0019$) à indução quando comparado com as novilhas que passaram por restrição na fase 2 do experimento.

Tabela 11 - Resposta à indução de puberdade com progesterona nas novilhas Nelore que não entraram naturalmente em puberdade até os 19 meses de idade

	TRATAMENTOS			
	NAA	NAM	NMA	NMM
N	2	4	6	10
Resposta à indução, %	100	75	71	70
Peso à indução, kg	399 ^a ± 20	340 ^b ± 14	401 ^a ± 14	330 ^b ± 9

Nota: A indução da puberdade foi realizada com a inserção de um dispositivo de progesterona por 10 dias. Tratamentos: Novilhas Nelore submetidas ao GMD elevado dos 3 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NAA); GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade e GMD médio dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NAM); GMD médio dos 3 aos 7 meses de idade e GMD elevado dos 7 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NMA); GMD médio dos 3 aos 19 meses de idade, ou até a puberdade (NMM). Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si ($P = 0,0019$).

5.6 Discussão

Não existem na literatura trabalhos de *imprinting* metabólico causado pelo aumento do ritmo de crescimento dos 3 aos 7 meses de idade em novilhas Nelore e o seu efeito na puberdade. Neste estudo o ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 7 meses de idade não impactou na puberdade de novilhas Nelore. As novilhas Nelore do tratamento NAM apresentaram a mesma taxa de puberdade do tratamento NMA até os 19 meses de idade, rejeitando a primeira hipótese proposta neste experimento. No entanto, apesar do GMD elevado durante a fase 1 não ter antecipado a puberdade, ou seja, as curvas de puberdade dos tratamentos NAM e NMA foram semelhantes, as novilhas dos tratamentos NMA e NAA apresentaram no fim do experimento peso corporal semelhante, porém o tratamento NAA induziu

cerca de 30% à mais de novilhas púberes que o tratamento NMA, aceitando assim a segunda hipótese proposta neste trabalho. Apesar dessa diferença não ser estatística, fica claro que o tratamento NAA induziu maior porcentagem de puberdade quando comparado com os demais tratamentos. Outro ponto importante foi que as novilhas do tratamento NAM passaram por 11 meses com CMS restrito durante a fase 2 do experimento e mesmo assim apresentaram a mesma curva de puberdade das novilhas do tratamento NMA que ficaram durante 11 meses submetidas à CMS *ad libitum*. Contudo, esses resultados descritos acima podem ter o fotoperíodo como fator de confundimento. Neste trabalho e no experimento I da tese foi mostrado que nenhuma novilha entrou em puberdade nos meses de junho, julho e agosto. As novilhas do NMA foram ficando mais pesadas no final do experimento (outono - inverno) o que pode ter impactado na taxa de puberdade deste tratamento, que em tese deveria ser igual ao MAA aos 19 meses, uma vez que ambos tratamentos apresentavam o mesmo peso ao final do experimento.

As novilhas Nelore apresentaram desempenho menor quando comparadas com as novilhas Angus ou cruzadas dos trabalhos de Gasser et al. (2006a); Cardoso et al. (2014) e Moriel et al. (2014). As novilhas Nelore apresentaram GMD de cerca de 0,800 Kg/dia e CMS de cerca de 3% do peso corporal. Nos trabalhos que mostraram efeito do *imprinting* metabólico antes dos 7 meses de idade, as bezerras apresentaram GMD de cerca de 1 Kg/dia (GASSER et al., 2006; CARDOSO et al., 2014) consumindo cerca de 3% (GASSER et al., 2006a) a 3,5% (MORIEL et al., 2014) do peso corporal. Contudo, não houve antecipação da idade na puberdade. Esses dados não corroboram com os dados de Moriel et al. (2014), em que o ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 6 meses de idade fez com que as novilhas entrassem em puberdade mais jovens e mais leves.

Um diferencial importante dos nossos experimentos foi que todas as novilhas eram filhas do mesmo touro, sendo o touro Nelore utilizado é considerado precoce para os padrões da raça [avaliação para perímetro escrotal entre os 10% melhores do sumário Aliança 2015 (GENSYS, 2015)]. O nosso grupo de pesquisa mostrou em dois trabalhos que o efeito da genética é o fator mais importante para a puberdade de novilhas Nelore (NEPOMUCENO, 2013; experimento I da tese). Ainda, foi mostrado no experimento II da tese que o ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 7 meses de idade não impactou na puberdade de novilhas cruzadas (Angus x Nelore) que apresentaram puberdade por volta dos 13 meses independente do ritmo de

crescimento dos 3 aos 7 meses de idade. Essas novilhas eram filhas de um touro considerado tardio para os padrões da raça Angus.

Na comparação entre os tratamentos NAA e NMA ficou evidenciado o efeito do ganho compensatório no GMD e no CMS. Aos 7 meses de idade, as novilhas do tratamento NAA pesavam 35 Kg a mais que as novilhas do NMA. Essa diferença de peso levou as novilhas do NAA consumirem 0,5 Kg de MS/dia à mais que as novilhas do NMA. No entanto, as novilhas do tratamento NMA ganharam cerca de 0,100 Kg/dia a mais do que as novilhas do NAA, mesmo as novilhas do tratamento NMA apresentando CMS menor quando comparado com as novilhas NAA. Os trabalhos de Luna-Pinto e Crojé (2000) e Cardoso et al. (2014) mostram a possibilidade de utilizar o crescimento compensatório sem afetar a idade à puberdade. Contudo, as novilhas do tratamento NAA apresentaram taxa de puberdade cerca de 30% maior do que as novilhas NMA, como discutido acima. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito do ganho compensatório sobre a puberdade.

A comparação dos resultados dos capítulos 3 e 4 desta tese deixa claro que as novilhas cruzadas são mais precoces comparadas com as novilhas Nelore. Isso é importante para sistemas de criação que têm como meta emprenhar novilhas na primeira estação de monta, antes dos 18 meses de idade, na qual se faz necessário o uso de protocolos de indução de puberdade em novilhas Nelore e desnecessárias para novilhas cruzadas devido a precocidade das novilhas Angus. A indução da puberdade com progesterona tem ganhado cada vez mais espaço na pecuária no Brasil e tem apresentado resultados animadores em novilhas de 24 meses de idade (CLARO JUNIOR et al., 2010; RODRIGUES et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014). Aos 24 meses de idade e cerca de 330 Kg de peso corporal é possível induzir a puberdade em cerca de 90% das novilhas (RODRIGUES et al., 2014). No presente trabalho a inserção de uma fonte de progesterona foi capaz de induzir cerca de 70% de puberdade nas novilhas Nelore não púberes aos 19 meses de idade independente do peso corporal que variou de 330 a 401 Kg entre os tratamentos. A progesterona mostrou ser eficiente em induzir a puberdade em novilhas das raças Charolês e Hereford a partir dos 12,5 meses de idade (HALL et al., 1997). O mecanismo pelo qual a progesterona induz a puberdade ainda não é bem conhecido, mas sabe-se que neurônios kisspeptina são sensíveis à progesterona e os receptores de progesterona são necessários para induzir um pico normal de LH,

via Kisspeptina (STEPHENS et al., 2015). No entanto, essa relação ainda não é bem conhecida.

5.7 Conclusão

Em novilhas cruzadas (Angus x Nelore), o ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 7 meses de idade não causou *imprinting* metabólico pois não houve antecipação da puberdade até 19 meses de idade.

O ritmo de crescimento elevado nas fases 1 e 2 aumentou a porcentagem de novilhas púberes.

O ritmo de crescimento elevado dos 3 aos 7 meses de idade fez com que as novilhas do tratamento NAM entrassem em puberdade mesmo em restrição alimentar durante a fase 2 do experimento.

6 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS EXPERIMENTOS

Como visto na revisão de literatura, através da antecipação da puberdade podemos antecipar a sua vida reprodutiva e produtiva das novilhas. Os experimentos com novilhas Nelore mostraram que por meio do uso de touros precoces e nutrição adequada é possível obter uma porcentagem significativa de novilhas púberes na primeira estação reprodutiva sem o uso de protocolos de indução de puberdade. Por outro lado, o uso de touros tardios impede a antecipação da vida reprodutiva das novilhas, mesmo em boas condições nutricionais e deixa claro a importância da escolha do sêmen e o impacto disso nos índices zootécnicos dentro da propriedade. Foi mostrado no primeiro experimento que apenas através da escolha do sêmen é possível antecipar em cerca de 5 meses a puberdade das novilhas independente do sistema de criação. Isso significa economizar tempo e alimento para colocar as novilhas em reprodução.

Por outro lado, foi possível observar através das curvas de puberdade das novilhas Nelore precoce submetidas ao GMD elevado que uma porcentagem de novilhas não atinge a puberdade a tempo de emprenhar na primeira estação de monta. Sendo assim, é importante que o pecuarista identifique as novilhas precoces e tardias dentro do rebanho, procurando multiplicar as novilhas precoces e descartar as tardias. Assim, através do melhoramento genético seria possível chegar ao resultado encontrado com as novilhas cruzadas (Angus x Nelore), as quais entraram em puberdade em uma janela de tempo muito curta (em torno de 3 meses respeitando os tratamentos) e antes da primeira estação reprodutiva.

O experimento com novilhas cruzadas (Angus x Nelore) mostrou que o uso desse tipo de novilha como matriz permite começar a primeira estação reprodutiva por volta dos 14 meses de idade com a maioria das novilhas púberes sem o uso de protocolos de indução de puberdade. Desde que essas novilhas sejam submetidas a boas condições nutricionais, ou seja, que apresentem peso corporal por volta de 330 kg aos 14 meses de idade. Outro ponto importante mostrado no capítulo 3 foi que o GMD elevado durante os períodos de cria e recria não necessariamente adianta a puberdade. Sendo assim, o produtor deve tomar cuidado ao trabalhar com técnicas de suplementação que não serão viáveis economicamente, uma vez que não tem impacto zootécnico.

Ainda a respeito do primeiro experimento, mostramos que não só a genética é importante, mas a nutrição é um fator necessário para que as novilhas entrem em puberdade. A diferença entre os planos nutricionais no primeiro experimento foi responsável por cerca de 1 ano de diferença na idade à puberdade independente se a novilha era filha de touro precoce ou tardio. Assim, só é possível emprenhar as novilhas na primeira estação reprodutiva com o uso de estratégias nutricionais para evitar restrição de crescimento das novilhas.

Apesar de não ficar evidenciado a vantagem do GMD elevado dos 3 aos 7 meses de idade na puberdade em novilhas Nelore e cruzadas é importante ressaltar que nesta fase as novilhas apresentam taxas de conversão alimentar muito superiores que na segunda fase dos experimentos (dados não mostrados). Sendo assim, o produtor gasta menos Kg de matéria seca para obter o mesmo GMD. No entanto, apesar das novilhas serem mais eficientes dos 3 aos 7 meses de idade, depende da realidade de cada sistema de produção tomar a decisão de quando suplementar as novilhas. Isso porque foi demonstrado que mesmo bezerras desmamadas “leves” podem ser recuperadas e entrarem em puberdade em idade semelhante às que não passaram por restrição alimentar.

Quanto as perspectivas de estudos futuros com puberdade, essa tese mostra pontos importantes que devem ser melhor estudados. O primeiro ponto é a influência do fotoperíodo na puberdade de novilhas Nelore. Nenhuma novilha Nelore dos experimentos dos capítulos 2 e 4 entrou em puberdade nos meses de junho, julho e agosto mesmo submetidas a GMD elevado. Quando chegou o mês de setembro, boa parte das novilhas nesta situação no experimento do capítulo 2 apresentaram puberdade, levando a supor o efeito do fotoperíodo nas novilhas Nelore.

Outro ponto importante mostrado nesta tese foi o efeito do crescimento compensatório na puberdade das novilhas. Esse tópico é importante porque o crescimento compensatório pode ser uma estratégia de manejo interessante para o produtor rural economizar com alimentação do rebanho. Os resultados dos experimentos sugerem que o uso do crescimento compensatório não prejudica a idade à puberdade, mas é preciso mais pesquisa para determinar, principalmente qual na duração, a intensidade e o período em que o crescimento compensatório pode ser utilizado sem prejuízo à puberdade.

Algumas propriedades têm começado a trabalhar com indução de puberdade em novilhas Nelore com 14 meses de idade, mas o resultado desse processo ainda pode ser melhorado. Dentro desse tópico, não sabemos quais os fatores que levam ao sucesso da indução de puberdade das novilhas Nelore nessa idade e por conseguinte à prenhez. Tal vez, um fator importante seja a genética, ou seja, o quão longe da puberdade a novilha está.

Assim, os experimentos mostrados nessa tese fornecem embasamento técnico científico para aperfeiçoar a criação de novilhas de corte e traçar estratégias nutricionais para fazer com que o produtor de gado de corte coloque as novilhas, tanto Nelore como cruzadas, em reprodução na primeira estação de monta (14 a 18 meses de idade).

REFERÊNCIAS

ALVES, B. R.; CARDOSO, R. C.; PREZOTTO, L. D.; THORSON, J. F.; BEDENBAUGH, M.; SHARPTON, S. M.; CARATY, A.; KEISLER, D. H.; TEDESCHI, L. O.; WILLIAMS, G. L.; AMSTALDEN, M. Elevated body weight gain during the juvenile period alters neuropeptide y-gonadotropin-releasing hormone circuitry in prepubertal heifers. **Biology of Reproduction**, v. 92, n. 2, p. 1–10, 2015.

AMERICAN ANGUS ASSOCIATION. **Sumário de touros Angus 2016**. Disponível em: <<https://www.angus.org/animal/epdpedsearch.aspx>>. Acesso em: 09 jun. 2016.

AMSTALDEN, M.; CARDOSO, R. C.; ALVES, B. R. C.; WILLIAMS, G. L. Reproduction symposium: Hypothalamic neuropeptides and the nutritional programming of puberty in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 3211–3222, 2014.

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.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBUÍÑOS (ABCZ). **Sumário de touros da Associação Brasileira dos Criadores de Zebuínos (ABCZ)**. 2013. Disponível em: <<http://www.abcz.org.br/Home/Secao/163-PMGZ-CORTE>>. Acesso em: 02 jun. 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA). **Index Asbia Mercado 2014**. 2014. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>. Acesso em: 10 jun. 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA). **Index Asbia Mercado 2011**. 2014. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>. Acesso em: 10 jun. 2016.

BARB C. R.; KRAELING R. R. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 155–167, 2004.

BARB, C. R.; BARRETT, J. B.; KRAELING, R. R.; RAMPACEK, G. B. Role of leptin in modulating neuroendocrine function: a metabolic link between the brain-pituitary and adipose tissue. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, p. 111–125, 1999.

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 live weight gain at puberty in crossbred Nelore x Hereford heifers. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, p. 953–960, 2014.

BEDECARRATS, G. Y.; KAISER, U. B. Mutations in the human gonadotropinreleasing hormone receptor: insights into receptor biology and function. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 25, p. 368–378, 2007.

BUTLER, S. T.; MARR, A. L.; PELTON, S. H.; RADCLIFF, R. P.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v. 176, p. 205–217, 2003.

CÁNOVAS, A.; REVERTER, A.; DEATLEY, K. L.; ASHLEY, R. L.; COLGRAVE, M.L.; M. R. S.; ISLAS-TREJO, A.; LEHNERT, S.; PORTO-NETO, L.; RINCÓN, G.; SILVER, G. A.; SNELLING, W. N.; MEDRANO, J.F.; THOMAS, M.G. Multi-Tissue Omics Analyses Reveal Molecular Regulatory Networks for Puberty in Composite Beef Cattle. **Plos One**, n. 9, n. 7, 2014.

CARDOSO, R. C.; ALVES, B. R. C.; PREZOTTO, L. D.; THORSON, J. F.; TEDESCHI, L. O.; KEISLER, D. H.; PARK, C. S.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS G. L. Use of a stair-step compensatory gain nutritional regimen to program the onset of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 2942–2949, 2014.

CARDOSO, R. C.; ALVES, B. R. C.; SHARPTON, S. M.; WILLIAMS, G. L.; AMSTALDEN, M. Nutritional Programming of Accelerated Puberty in Heifers: Involvement of Pro-Opiomelanocortin Neurones in the Arcuate Nucleus. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 27, p. 647–657, 2015.

CARTWRIGHT, T. C. Size as a component of beef production efficiency: cow-calf production. **Journal of Animal Science**, v. 48, n. 4, p. 974-980, 1979

CARVALHO, M. V.; DINIZ-MAGALHÃES, J.; PEREIRA, A. S.; SANTOS, M. V.; SILVA, L. F. Effect of chronic infusion of leptin and nutrition on sexual maturation of zebu heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 1207-1125, 2013.

CASANUEVA, F. F.; DIEGUEZ, C. Neuroendocrine regulation and actions of leptin. **Frontiers Neuroendocrinology**, v. 20, p. 317–363, 1999.

CASTELLANO, J. M.; BENTSEN, A. H.; SANCHEZ-GARRIDO, M. A.; RUIZ-PINO, F.; ROMERO, M.; GARCIA-GALIANO, D.; AGUILAR, E.; PINILLA, L.; DIEGUEZ, C.;

MIKKELSEN, J. D.; TENA-SEMPERE, M. Early metabolic programming of puberty onset: impact of changes in postnatal feeding and rearing conditions on the timing of puberty and development of the hypothalamic kisspeptin system. **Endocrinology**, v. 152, p. 3396–3408, 2011.

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.

COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; FRANCISCO, C. L.; MARQUES, R. S.; MUELLER, C. J.; KEISLER, D. H. Effects of bovine somatotropin administration on growth, physiological, and reproductive responses of replacement beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 6, p. 2894-2901, 2013.

DAFTARY, S. S.; GORE, A. C. The hypothalamic insulin-like growth factor-1 receptor and its relationship to gonadotropin-releasing hormones neurones during postnatal development. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 16, p.160–169, 2004.

DAY, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E. PIRES, A. V. Fatores que afetam a idade na puberdade em novilhas de corte. In: PIRES, A. V. (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: Fealq, 2010. p. 637-652.

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.

ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; TEIXEIRA, L. A. Seleção para precocidade sexual em novilhas de corte. In: PIRES, A. V. (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: Fealq, 2010. p. 801-811.

ELER, J. P.; SILVA, J. A.; FERRAZ, J. B. S.; DIAS, F.; OLIVEIRA, H. N.; EVANS, J. L.; GOLDEN, B. L. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nellore heifers. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 951–954, 2002.

FERREIRA, E. M.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; NEPOMUCENO, D. D.; BIEHL, M. V.; MENDES, C.Q.; PIRES, A. V. Efeito da produção de novilhas à pasto sobre a puberdade. In: Rosane Cláudia Rodrigues; Michelle de Oliveira Parante. (Org.). **SIMPRUPASTO: o uso da ciência e de tecnologias para a mudança de paradigmas**. Chapadinha: Edufma, 2012. v. 1, p. 128-158.

FISCHBEIN S. Intra-pair similarity in physical growth of monozygotic and of dizygotic twins during puberty. **Annals of Human Biology**, n. 4, p. 417–430, 1977.

FOOTE, A. P.; HALES, K. E.; LENTS, C. A.; FREETLY, H. C. Association of circulating active and total ghrelin concentrations with dry matter intake, growth, and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 5651–5658, 2014.

FORBES, S.; LI, X. F.; KINSEY-JONES, J.; O'BYRNE, K. Effects of ghrelin on Kisspeptin mRNA expression in the hypothalamic medial preoptic area and pulsatile luteinizing hormone secretion in the female rat. **Neuroscience Letters**, v. 460, p. 143–147, 2009.

FORTES, M. R.; SNELLING, W. M.; REVERTER, A.; NAGARAJ, S. H.; LEHNERT, S. A.; HAWKEN, R. J.; DeATLEY, K. L.; PETERS, S. O.; SILVER, G. A.; RINCON, G.; MEDRANO, J. F.; ISLAS-TREJO, A.; THOMAS, M. G. Gene network analyses of first service conception in Brangus heifers: use of genome and trait associations, hypothalamic-transcriptome information, and transcription factors. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 2894–2906, 2012.

FORTES, M. R. S.; REVERTER, A.; ZHANG, Y. D.; COLLIS, E.; NAGARAJ, S. H.; JONSSON, N. N.; PRAYAGA, K. C.; BARRIS, W.; HAWKENA, R. J. Association weight matrix for the genetic dissection of puberty in beef cattle. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, p. 13642–13647, 2010.

GALINA, C. S.; ARTHUR, G. H. Review of cattle reproduction in the tropics 1. Puberty and age at first calving. **Animal Breeding Abstracts**, v. 57, p. 583, 1989.
GAMBA, M., PRALONG, F.P. Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: the role of leptin and insulin. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 254–255, p. 133–139, 2006.

GARRETT, W. N.; MEYER, J. H.; LOFGREEN, G. P. The comparative energy requirements of sheep and cattle for maintenance and gain. **Jornal of Animal Science**, v. 18, p. 528–547, 1959.

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

GASSER, C. L. Joint alharma-beef species symposium: Considerations on puberty in replacement beef heifers. **Jornal of Animal Science**, n. 91, p. 1336–1340, 2013.

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

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

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

GENSYS. **Sumário de touros Nelore 2015**. 2015. Disponível em: http://www.gensys.com.br/home/show_page.php?id=701. Acesso em: 09 jun. 2016.

GRAUGNARD, D. E.; BERGER, L. L.; FAULKNER, D. B.; LOOR, J. J. High-starch diets induce precocious adipogenic gene network up-regulation in longissimus lumborum of early-weaned Angus cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 103, p. 953–963, 2010.

GUNSKI, R. J.; GARNERO, A. V.; BEZERRA, L. A. F.; CORRADO, M. P.; LÔBO, R. B. Idade ao primeiro parto, período de gestação e peso ao nascimento na raça Nelore. **Ciência Agrônômica**, v. 32, p. 46-52, 2001.

HAN, S. K.; GOTTSCH, M. L.; LEE, K. J.; POPA, S. M.; SMITH, J. T.; JAKAWICH, S. K.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A.; HERBISON, A. E. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 11, p. 349–356, 2005.

HANLEY, B.; DIJANE, J.; FEWTRELL, M.; GRYNBERG, A.; HUMMEL, S.; JUNIEN, C.; KOLETZKO, B.; LEWIS, S.; RENZ, H.; SYMONDS, M.; GROS, M.; HARTHOORN, L.; MACE, K.; SAMUELS, F.; VAN DER BEEK, E. M. Metabolic imprinting, programming and epigenetics - a review of present priorities and future opportunities. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 1, p. 1-25, 2010.

HANSEN, P. J. Seasonal modulation of puberty and the postpartum anestrus in cattle: a review. **Livestock Production Science**, v. 12, p. 309–327, 1985.

HAYASHIDA, T.; MURAKAMI, K.; MOGI, K.; NISHIHARA, M.; NAKAZATO, M.; MONDAL, M. S.; HORII, Y.; KOJIMA, M.; KANGAWA, K.; MURAKAMI, N. Ghrelin in domestic animals: Distribution in stomach and its possible role. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 21, p. 17–24, 2001.

HILL, W. G. Understanding and using quantitative genetic variation. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, v. 365, p. 73–85, 2010.

HINEY, J. K.; SRIVASTAVA, V.; NYBERG, C. L.; OJEDA, S. R.; DEES, W. L. Insulin-like growth factor-I of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty. **Endocrinology**, v. 137, p. 3717–3727, 1996.

HINEY, J. K.; SRIVASTAVA, V. K.; PINE, M. D.; LES DEES, W. Insulin-like growth factor - I activates KiSS-1 gene expression in the brain of the prepubertal female rat. **Endocrinology**, v. 150, p. 376–384, 2009.

JENKINS, T. G.; FERREL, C. L. Conversion efficiency through weaning of nine breeds of cattle. **MARC Beef Research, Progress Report**, v. 4, p. 156-157, 1993.

JOHNSTON, D. J.; CORBET, N. J.; BARWICK, S. A.; WOLCOTT, M. L.; HOLROYD, R. G. Genetic correlations of young bull reproductive traits and heifer puberty traits with female reproductive performance in two tropical beef genotypes in northern Australia. **Animal Production Science**, v. 54, p. 74–84, 2014.

KAPRIO, J.; RIMPELA, A.; WINTER, T.; VIKEN, R. J.; RIMPELA, M.; ROSE, R. J. Common genetic influences on BMI and age at menarche. **Human Biology**, v. 67, p. 739–753, 1995.

KOJIMA, M.; HOSODA, H.; DATE, Y.; NAKAZATO, M.; MATSUO, H.; KANGAWA, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, v. 402, p. 656–660, 1999.

LAMPERT, K. P.; SCHMIDT, C.; FISCHER, P.; VOLFF, J. N.; HOFFMANN, C.; MUCK, J.; LOHSE, M. J.; RYAN, M. J.; SCHARTL, M. Determination of onset of sexual maturation and mating behavior by melanocortin receptor 4 polymorphisms. **Current Biology**, v. 20, p. 1729–1734, 2010.

LAPATTO, R.; PALLAIS, J. C.; ZHANG, D.; CHAN, Y. M.; MAHAN, A.; CERRATO, F.; LE, W. W.; HOFFMAN, G. E.; SEMINARA, S. B. Kiss1^{-/-} mice exhibit more variable hypogonadism than Gpr54^{-/-} mice. **Endocrinology**, v. 148, p. 4927–4936, 2007.

LARDNER, H. A.; DAMIRAN, D.; HENDRICK, S.; LARSON, K.; FUNSTON, R. Effect of development system on growth and reproductive performance of beef heifers **Jornal of Animal Science**, v. 92, p. 3116–3126, 2014.

LEBRETHON, M. C.; AGANINA, A.; FOURNIER, M.; GERARD, A.; PARENT, A. S.; BOURGUIGNON, J. P. Effects of *in vivo* and *in vitro* administration of ghrelin, leptin and neuropeptide mediators on pulsatile gonadotrophin-releasing hormone secretion from male rat hypothalamus before and after puberty. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 19, p. 181–188, 2007.

LENTS, C. A.; WETTEMANN, R. P.; WHITE, F. J.; RUBIO, I.; CICCIOLO, N. H.; SPICER, L. J.; KEISLER, D. H.; PAYTON, M. E. Influence of nutrient intake and body fat on concentrations of insulin-like growth factor-I, insulin, thyroxine, and leptin in plasma of gestating beef cows, **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 586–596, 2005

LEVIN, B. E. Metabolic imprinting: critical impact of the perinatal environment on the regulation of energy homeostasis. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, v. 361, p. 1107–1121, 2006.

LUCY M. C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 7, n. 83, p. 1635–1647, 2000.

LUNA-PINTO, G.; CRONJÉ, P. B. The roles of the insulin-like growth factor system and leptin as possible mediators of the effects of nutritional restriction on age at puberty and compensatory growth in dairy heifers. **South African Journal of Animal Science**, v. 30, n. 2, p.155–163, 2000.

LUQUE, R. M.; KINEMAN, R. D.; TENA-SEMPERE, M. Regulation of Hypothalamic Expression of KiSS-1 and GPR54 Genes by Metabolic Factors: Analyses Using Mouse Models and a Cell Line. **Endocrinology**, v. 148, p. 4601–4611, 2007.

MACIEL, M. N.; ZIEBA, D. A.; AMSTALDEN, M.; KEISLER, D. H.; NEVES, J. P.; WILLIAMS, G. L. Chronic administration of recombinant ovine leptin in growing beef heifers: Effects on secretion of LH, metabolic hormones, and timing of puberty. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2930–2936, 2004.

MADERSPACHER, F. Reproductive strategies: How big is your love? **Current Biology**, v. 20 p. 925-928, 2010.

MAGNI, P.; VETTOR, R.; PAGANO, C.; CALCAGNO, A.; BERETTA, E.; MESSI, E.; ZANISI, M.; MARTINI, L.; MOTTA, M. Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin-releasing hormone-secreting neurons. **Endocrinology**, v. 140, p. 1581–1585, 1999.

MANTZOROS, C. S.; FLIER, J. S.; ROGOL, A. D. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 4, p. 1066–1070, 1997.

McCAMPBELL, C. W. The effect of early breeding upon range cows. **Journal of Animal Science**, v. 1, p. 12- 14, 1921.

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

MORIEL, P.; JOHNSON, S. E.; VENDRAMINI, J. M. B.; MERCADANTE, V. R. G.; HERSOM, M. J.; ARTHINGTON, J. D. Effects of calf weaning age and subsequent management system on growth and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 3096–3107, 2014.

NAVARRO, V. M.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, R.; CASTELLANO, J. M.; ROA, J.; MAYEN, A.; BARREIRO, M. L.; GAYTAN, F.; AGUILAR, E.; PINILLA, L.; DIEGUEZ, C.; TENA-SEMPERE, M. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GRP54. **The Journal of Physiology**, v. 561, p. 379–386, 2004.

NEPOMUCENO, D. D. **Efeito do manejo nutricional sobre a maturação do eixo reprodutivo somatotrófico no início da puberdade de novilhas Nelore**. 2013. 138 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of beef cattle, 7th revised edition. Washington, DC: National Academic Press, 1996.

NUNEZ-DOMINGUEZ, R.; CUNDIFF, L. V.; DICKERSON, G. E.; GREGORY, K. E.; KOCH, R. M. Lifetime production of beef heifers calving first at two vs three years of age. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 3467-3479, 1991.

NUNEZ-DOMINGUEZ, R.; CUNDIFF, L. V.; DICKERSON, G. E.; GREGORY, K. E.; KOCH, R. M. Effects of managing heifers to calve first at two vs three years of age on longevity and lifetime production of beef cows. **Beef Research Program Progress Report**, v. 2, p. 33-35. 1985.

OJEDA, S. R.; LOMNICZI, A.; MASTRONARDI, C.; HEGER, S.; ROTH, C.; PARENT, A. S.; MATAGNE, V.; MUNGENAST, A. E. Minireview: the neuroendocrine regulation of puberty: is the time ripe for a systems biology approach? **Endocrinology**, v. 147, p. 1166–1174, 2006.

PALMERT, M. R.; BOEPPLE, P. A.; Variation in the timing of puberty: clinical spectrum and genetic investigation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 6, 2001.

PARENT, A. S.; TEILMANN, G.; JUUL, A.; SKAKKEBAEK, N. E.; TOPPARI, J.; BOURGUIGNON, J. P. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. **Endocrine Reviews**, v. 24, n. 5, p. 668–693, 2003.

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

PERRY, G.A. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. **Theriogenology**, v. 86 p. 373-378, 2016.

PIERROZ, D. D.; GRUAZ, N. M.; D'ALLEVES, V.; AUBERT, M. L. Chronic administration of neuropeptide Y into the lateral ventricle starting at 30 days of life delays sexual maturation in the female rat. **Neuroendocrinology**, v. 61, p. 293–300, 1995.

PINNEY, D. O.; STEPHENS, D. F.; POPE, L. S. Lifetime effects of winter supplemental feed level and age at first parturition on range beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 34, p. 1067-1074, 1972.

PRALONG, F. P.; VOIROL, M. J.; GIACOMINI, M.; GAILLARD, R. C.; GROUZMANN, E. Acceleration of pubertal development following central blockade of the Y1 subtype of neuropeptide Y receptors. **Regulatory Peptides**, v. 95, p. 47–52, 2000.

REVEL, F. G.; SABOUREAU, M.; MASSON-PEVET, M.; PEVET, P.; MIKKELSEN, J. D.; SIMONNEAUX, V. KiSS-1: a likely candidate for the photoperiodic control of reproduction in seasonal breeders. **Chronobiology International**, v. 23, p. 277–287, 2006.

ROA, J.; GALIANO, D. G.; CASTELLANO, J. M.; PINILLA, F. G. L.; TENA-SEMPERE, M. Metabolic control of puberty onset: New players, new mechanisms. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 324, n. 1-2, p.87–94, 2010.

ROBERTS, C. A.; McCUTCHEON, S. N.; BLAIR, H. T. Developmental patterns of plasma insulin-like growth factor-1 in sheep. **Domestic Animal and Endocrinology**, v. 4, p. 457–463, 1990.

RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M. H. C.; CARVALHO, E. R.; DAY, M. L.; VASCONCELOS J. L. M. Effect of interval from induction of puberty to initiation of a timed AI protocol on pregnancy rate in Nelore heifers **Theriogenology**, v. 82, p. 760–766, 2014.

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 Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 79, p. 135–141, 2013.

ROSA, A. N., LÔBO, R. B., OLIVEIRA, H. N.; BEZERRA, L. A. F.; BORJAS, A. R. Peso Adulto de Matrizes em Rebanhos de Seleção da Raça Nelore no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 1027-1036, 2001

ROSA, A. N., LÔBO, R. B., OLIVEIRA, H. N.; BORJAS, A. R.; Variabilidade genética do peso adulto de matrizes em um rebanho Nelore no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1690-1695, 2000.

SANTANA JUNIOR, M. L.; ELER, J. P.; BIGNARDI, A. B.; FERRAZ, J. B. S. Two-trait random regression model to estimate the genetic association of scrotal circumference with female reproductive performance in Nelore cattle. **Theriogenology**, v. 83, p. 1534–1540, 2015.

SCHAMS, D.; SCHALLENBERGER, E.; GOMBE, S.; KARG H. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. **Journal of Reproductive and Fertility Supplement**, v. 1, n. 30, p. 103–110, 1981.

SCHEFFLER, J. M.; MCCANN, M. A.; GREINER, S. P.; JIANG, H.; HANIGAN, M. D.; BRIDGES, G. A.; LAKE, S. L.; GERRARD, D. E. Early metabolic imprinting events increase marbling scores in fed cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 320–324, 2014.

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

SEMINARA, S. B.; MESSENGER, S.; CHATZIDAKI, E. E.; THRESHER, R. R.; ACIERNO, J. S. Jr.; SHAGOURY, J. K.; BO-ABBAS, Y.; KUOHUNG, W.; SCHWINOF, K. M.; HENDRICK, A. G.; ZAHN, D.; DIXON, J.; KAISER, U. B.; SLAUGENHAUPT, S. A.; GUSELLA, J. F.; O'RAHILLY, S.; CARLTON, M. B.; CROWLEY, W. F. Jr.; APARICIO, S. A.; COLLEDGE, W. H. The GPR54 gene as a regulator of puberty. **The New England Journal of Medicine**, v. 349, p. 1614–1627, 2003.

SERENO, J. R. B.; PELLEGRIN, A. O.; LARA, M. A. C.; ABREU, U. G. P.; SERENO, F. T. P. S.; CHALITA, L. V. A. S. Estimativa da idade e peso a primeira monta de novilhas no Pantanal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1561–1565, 2001.

SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A. Relationships among weight gains, age at puberty and reproductive performance in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 32, p. 127–131, 1971.

SHORT, R. E.; STAIGMILLER, R. B.; BELLOWS, R. A.; GREER, R. C. Breeding heifers at one year of age: Biological and economical considerations. In: FIELDS M. J.; SAND R. S. (ed.). **Factors affecting calf crop**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.55-68.

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

STEPHENS, S. B.; TOLSON, K. P.; ROUSE JUNIOR, M. L.; POLING, M. C.; HASHIMOTO-PARTYKA, M. K.; MELLON, P. L.; KAUFFMAN, A. S. Absent

Progesterone Signaling in Kisspeptin Neurons Disrupts the LH Surge and Impairs Fertility in Female Mice. **Endocrinology**, v. 156, n. 9, p. 3091-3097, 2015.

STEVENS, A.; BEGUM, G.; WHITE, A. Epigenetic changes in the hypothalamic pro-opiomelanocortin gene: a mechanism linking maternal undernutrition to obesity in the offspring? **European Journal of Pharmacology**, v. 660, p. 194–201, 2011.

SUGDEN, M. C.; LANGDOWN, M. L.; MUNNS, M. J.; HOLNESS, M. J. Maternal glucocorticoid treatment modulates placental leptin and leptin receptor expression and materno-fetal leptin physiology during late pregnancy, and elicits hypertension associated with hyperleptinaemia in the early-growth-retarded adult offspring. **European Journal of Endocrinology**, v. 145, n. 4, p. 529–539, 2001.

TENA-SEMPERE, M. Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropic axis. **Vitamins & Hormones**, v. 77, p. 285–300, 2008a.

TENA-SEMPERE, M. Ghrelin as a pleiotrophic modulator of gonadal function and reproduction. **Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism**, v. 4, p. 666–674, 2008b.

TILLET, Y.; PICARD, S.; BRUNEAU, G.; CIOFI, P.; WANKOWSKA, M.; WOJCIK-GLADYSZ, A.; POLKOWSKA, J. Hypothalamic arcuate neuropeptide Y-neurons decrease periventricular somatostatin-neuronal activity before puberty in the female lamb: morphological arguments. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 40, p. 265–271, 2010.

TOPALOGLU, A. K.; REIMANN, F.; GUCLU, M.; YALIN, A. S.; KOTAN, L. D.; PORTER, K. M.; SERIN, A.; MUNGAN, N. O.; COOK, J. R.; OZBEK, M. N.; IMAMOGLU, S.; AKALIN, N. S.; YUKSEL, B.; O'RAHILLY, S.; SEMPLE, R. K. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. **Nature Genetics**, v. 41, p. 354–358, 2009.

UENOYAMA, Y.; TOMIKAWA, J.; INOUE, N.; GOTO, T.; MINABE, S.; IEDA, N.; NAKAMURA, S.; WATANABE, Y.; IKEGAMI, K.; MATSUDA, F.; OHKURA, S.; MAEDA, K. I.; TSUKAMURA, H. Molecular and Epigenetic Mechanism Regulating Hypothalamic Kiss1 Gene Expression in Mammals. **Neuroendocrinology**. 2016
DOI: 10.1159/000445207

VULLIEMOZ, N. R.; XIAO, E.; XIA-ZHANG, L.; RIVIER, J.; FERIN, M. Astressin B, a nonselective corticotropin-releasing hormone receptor antagonist, prevents the

inhibitory effect of ghrelin on luteinizing hormone pulse frequency in the ovariectomized rhesus monkey. **Endocrinology**, v. 149, p. 869–874, 2008.

WATANOBE, H. Leptin directly acts within the hypothalamus to stimulate gonadotropin-releasing hormone secretion in vivo in rats. **The Journal of Physiology**, v. 545, p. 255–268, 2002.

WATERSON, M. J.; HORVATH, T. L. Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 6, p. 962–970, 2015.

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. 339–349, 2002.

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

YEO, S. H.; HERBISON, A. E. Projections of arcuate nucleus and rostral periventricular kisspeptin neurons in the adult female mouse brain. **Endocrinology**, v. 152, p. 2387–2399, 2011.

ZACHARIAS, L.; WURTMAN, R. J. Age at menarche. Genetic and environmental influences. **The New England Journal of Medicine**, n. 280, p. 868–875, 1969.