

JOSÉ PAULO ROMAN BARROSO

Monitoramento da ciclicidade de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais com progesterona aos 14 meses de idade

São Paulo

2023

JOSÉ PAULO ROMAN BARROSO

Monitoramento da ciclicidade de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais com progesterona aos 14 meses de idade

VERSÃO CORRIGIDA

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 a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Produção de Ruminantes

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires

São Paulo

2023

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)

4324
FMVZ

Barroso, José Paulo Roman
Monitoramento da ciclicidade de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais com progesterona aos 14 meses de idade / José Paulo Roman Barroso. – 2023.
72 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2023.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires.

1. Anestro. 2. Indução. 3. Maturidade. 4. Precocidade. 5. Puberdade. I. Título.



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da suplementação vitamínica e de protocolos hormonais sobre a indução da puberdade de novilhas Nelore super precoces", protocolada sob o CEUA nº 9274150720 (ID 000252), sob a responsabilidade de **Alexandre Vaz Pires e equipe; José Paulo Roman Barroso** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 07/08/2020.

We certify that the proposal "Effect of vitamin supplementation and hormonal protocols on the induction of puberty in super-precocious Nelore heifers", utilizing 220 Bovines (220 females), protocol number CEUA 9274150720 (ID 000252), under the responsibility of **Alexandre Vaz Pires and team; José Paulo Roman Barroso** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/07/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 09/2020 a 05/2021 Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

Idade: **8 a 14 meses**

Quantidade: **220**

Linhagem: **Nelore/comercial**

Peso: **150 a 250 kg**

São Paulo, 30 de janeiro de 2023

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo



FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BARROSO, José Paulo Roman

Título: **Monitoramento da ciclicidade de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais com progesterona aos 14 meses de idade**

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: _____

À minha esposa, Priscila

Aos meus pais, Paulo e Silvana

Aos meus irmãos, João e Júlio

Por estarem sempre ao meu lado,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

A Deus, por ter me dado o dom da vida, a saúde plena e a mente hígida; por me mostrar as saídas e criar os caminhos.

A minha esposa Priscila, pelo apoio, pela confiança, pelo amor e pela amizade.

A meus pais Paulo e Silvana pela educação e pelos esforços que fizeram para que eu pudesse hoje estar aqui.

Aos meus irmãos João e Júlio, pelas conversas, pela amizade e por serem um grande motivo para minha alegria.

A todos os meus familiares que estão sempre torcendo por mim.

Ao meu orientador Alexandre Vaz Pires, por compartilhar a sabedoria, pela amizade e por ser um grande incentivador e inspirador.

A todos os amigos de pós-graduação que dividiram esses anos comigo no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA).

A todos os estagiários que me ajudaram nos experimentos e pude compartilhar conhecimento.

A todos os funcionários da Esalq que fizeram parte destes anos de pós-graduação.

A professora Ivanete, pelos conselhos e pela amizade.

Ao professor Evandro, por compartilhar conhecimento e me dar a oportunidade de conduzir estudos no Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC).

A Universidade de São Paulo (USP), em especial à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), por possibilitar realizar meu doutorado.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), em especial o Departamento de Zootecnia, pelas instalações e laboratórios cedidos para realizar esse estudo.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial o professor João Bosco Barreto Filho, pela minha formação em medicina veterinária.

Aos amigos de Piracicaba, que compartilharam momentos nesse período.

A Globalgen, na pessoa de Alexandre Prata, pela doação dos protocolos hormonais utilizados nesse estudo.

A todos os alunos e amigos de pós-graduação que compartilharam conhecimento e momentos nesses anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Obrigado a todos que estiveram comigo nessa fase muito importante em minha vida e contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal.

Muito obrigado!

“O talento vence jogos, mas só o trabalho em equipe vence campeonatos”

Michael Jordan

RESUMO

BARROSO, JPR. **Monitoramento da ciclicidade de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais com progesterona aos 14 meses de idade.** 2023. 72f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Diversos protocolos hormonais tem sido utilizados para antecipar a primeira ovulação de novilhas Nelore, visando maior rentabilidade e eficiência reprodutiva. Nesse estudo foi avaliado a resposta à ovulação de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais e a manutenção da ciclicidade após a aplicação de mais de um protocolo. Foram utilizadas 213 novilhas da raça Nelore pré-púberes, submetidas protocolos hormonais aos $14,1 \pm 0,22$ meses de idade. Os tratamentos foram: Controle (0P4): sem protocolo hormonal; Indução (1P4): receberam um protocolo hormonal; Indução + 1 protocolo de sincronização (2P4): receberam dois protocolos hormonais; Indução + 2 protocolos de sincronização (3P4): receberam três protocolos hormonais. As novilhas não foram inseminadas e foram submetidas semanalmente à ultrassonografia transretal do aparelho reprodutor para identificação de CL e acompanhamento da ciclicidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLIMMIX do software SAS®. O tratamento 0P4 apresentou menor percentual (45%; $p < 0,0001$) de novilhas que ovularam pelo menos uma vez durante o estudo comparado aos grupos 1P4, 2P4 e 3P4 (90%, 96% e 100%). Do total de novilhas que ovularam 12%, 37%, 32% e 37% ($p = 0,28$) não mantiveram a ciclicidade após a primeira ovulação, respectivamente para 0P4, 1P4, 2P4 e 3P4. Os grupos 2P4 e 3P4 (65% e 63%) apresentaram uma maior proporção de novilhas ciclando ao final do estudo comparados ao 0P4 (42%), enquanto o 1P4 apresentou valores intermediários (56%; $p = 0,04$). O diâmetro uterino foi maior apenas no momento nas avaliações durante o protocolos ($p < 0,0001$). Não houve diferença no volume de CL 7 dias após os protocolos. O diâmetro folicular reduziu após a aplicação dos protocolos ($p < 0,001$) e reduziu com o maior número de protocolos dentro do tratamento ($p < 0,0001$). A taxa de ciclicidade foi afetada pela genética paterna ($p = 0,03$). Os protocolos hormonais foram eficazes em induzir a primeira ovulação de novilhas Nelore de 14 meses, entretanto, um percentual considerável de novilhas não mantiveram a ciclicidade e retornaram à condição anovulatória.

Palavras-chave: Anestro, Indução, Maturidade, Precocidade, Puberdade.

ABSTRACT

BARROSO, JPR. **Estrous cycle monitoring of Nellore heifers submitted to hormonal protocols with progesterone at 14 months of age.** 2023. 72f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Several hormonal protocols have been used to anticipate the first ovulation of Nellore heifers, aiming at greater profitability and reproductive efficiency. In this study, the response to ovulation of Nellore heifers submitted to hormonal protocols and the maintenance of cyclicity after the application of more than one protocol were evaluated. A total of 213 prepubertal Nellore heifers, submitted to hormonal protocols at 14.1 ± 0.22 months of age, were used. The treatments were: Control (0P4): without hormonal protocol; Induction (1P4): received a hormonal protocol; Induction + 1 synchronization protocol (2P4): received two hormonal protocols; Induction + 2 synchronization protocols (3P4): received three hormonal protocols. The heifers were not inseminated and were submitted weekly to transrectal ultrasonography of the reproductive tract to identify CL and monitor cyclicity. Statistical analyzes were performed using the GLIMMIX procedure of the SAS® software. Treatment 0P4 had a lower percentage (45%; $p < 0.0001$) of heifers that ovulated at least once during the study compared to groups 1P4, 2P4 and 3P4 (90%, 96% and 100%). Of the total heifers that ovulated, 12%, 37%, 32% and 37% ($p = 0.28$) did not maintain cyclicity after the first ovulation, respectively for 0P4, 1P4, 2P4 and 3P4. Groups 2P4 and 3P4 (65% and 63%) showed a higher proportion of heifers cycling at the end of the study compared to 0P4 (42%), while 1P4 showed intermediate values (56%; $p = 0.04$). The uterine diameter was greater only at the moment in the evaluations during the protocols ($p < 0.0001$). There was no difference in CL volume 7 days after the protocols. The follicular diameter reduced after the application of the protocols ($p < 0.001$) and reduced with the highest number of protocols within the treatment ($p < 0.0001$). The cyclicity rate was affected by paternal genetics ($p = 0.03$). Hormonal protocols were effective in inducing the first ovulation of 14-month-old Nellore heifers, however, a considerable percentage of heifers did not maintain cyclicity and returned to the anovulatory condition.

Keywords: Anestrus, Induction, Maturity, Precocity, Puberty.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Novilhas Nelores utilizadas no estudo.....	30
Figura 2 – Novilhas Nelores alojadas nas instalações experimentais.....	31
Figura 3 - Representação esquemática dos tratamentos experimentais.....	33
Figura 4 - Representação esquemática do protocolo de indução de primeira ovulação.....	34
Figura 5 - Representação esquemática do protocolo de sincronização de ovulação...35	
Figura 6 - Percentual de novilhas Nelore apresentando corpo lúteo antes e após a exposição a protocolos hormonais.....	42
Figura 7 - Curva de sobrevivência das novilhas que ovularam e mantiveram a ciclicidade.....	44
Figura 8 - Diâmetro uterino das novilhas Nelore antes da aplicação do protocolo de indução de ovulação e no momento da retirada no implante nos protocolos.....	45
Figura 9 - Diâmetro uterino de novilhas Nelore durante o período experimental por tratamento.....	47
Figura 10 – Média do diâmetro do maior folículo de novilhas Nelore, mensurado na avaliação semanal de ultrassonografia.....	49
Figura 11 – Média do diâmetro do maior folículo de novilhas Nelore em relação ao período experimental.....	50
Figura 12 – Percentual de novilhas Nelore ovuladas e de novilhas que não mantiveram a ciclicidade em relação ao touro progenitor.....	53
Figura 13 – Oferta de ração para novilhas Nelore antes, durante e após o 1º protocolo hormonal à base de progesterona (protocolo de indução de ovulação).....	54
Figura 14 – Oferta de ração para novilhas Nelore antes, durante e após o 2º protocolo hormonal à base de progesterona (1º protocolo de sincronização de ovulação).....	55
Figura 15 – Oferta de ração para novilhas Nelore, durante e após o 3º protocolo hormonal à base de progesterona (2º protocolo de sincronização de ovulação).....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dietas experimentais.....	37
Tabela 2 – Parâmetros de desempenho zootécnico de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais à base de progesterona, monitoradas dos 11 aos 19 meses de idade.....	40
Tabela 3 - Taxa de ovulação de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais para indução de ovulação à base de progesterona.....	41
Tabela 4 - Idade à primeira ovulação e taxa de ovulação total de novilhas Neloires expostas a protocolos hormonais aos 14 meses de idade.....	43
Tabela 5 - Volume do corpo lúteo de novilhas Nelore de 14 meses de idade, mensurado sete dias após a aplicação de protocolos hormonais.....	48
Tabela 6 - Diâmetro do maior folículo ovariano de novilhas Nelore mensurado dois dias após a remoção do implante de P4.....	51
Tabela 7 – Comparação de novilhas Nelore que ovularam com as novilhas que não ovularam durante o estudo.....	52
Tabela 8 – Comparação de novilhas Nelore que mantiveram a ciclicidade com as novilhas que não mantiveram a ciclicidade durante o estudo.....	52

LISTA DE SIGLAS

3P = Probabilidade de prenhez precoce
BCNRM = Beef Cattle Nutrient Requirements Model
BE = Benzoato de estradiol
CE = Cipionato de estradiol
CL = Corpo lúteo
CMS = Consumo de matéria seca
DEP = Diferença esperada na progênie
DIV = Dispositivo intravaginal
E2 = Estradiol
EA = Eficiência alimentar
ECC = Escore de condição corporal
ECG = Gonadotrofina coriônica equina
EE = Extrato etéreo
EGS = Espessura de gordura subcutânea
EGSC = Espessura de gordura subcutânea na costela
EGSG = Espessura de gordura subcutânea na garupa
EM = Estação de monta
EPM = Erro padrão da média
EUT = Escore uterino
FDN = Fibra solúvel em detergente neutro
FDA = Fibra solúvel em detergente ácido
FSH = Hormônio folículo estimulante
GMD = Ganho de peso médio diário
GnRH = Hormônio liberador de gonadotrofina
IA = Inseminação artificial
IATF = Inseminação artificial em tempo fixo
IGF1 = Fator de crescimento semelhante à insulina 1
IM = Intramuscular
IPP = Idade ao primeiro parto
Kg = Quilograma
LH = Hormônio luteinizante
mg = Miligrama
MS = Matéria seca
P4 = Progesterona
PB = Proteína bruta
PC = Peso corporal
PGF2 α = Prostaglandina F 2 α
PP14 = Probabilidade de prenhez aos 14 meses
SAS = Statistical analysis system
SNP = Polimorfismo de nucleotídeo único
UI = Unidades internacionais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	Puberdade	18
2.1.1	Puberdade de novilhas de corte no cenário nacional	18
2.1.2	Definição de puberdade em novilhas	18
2.1.3	Mecanismos endócrinos na puberdade de novilhas.....	19
2.2	Aspectos nutricionais que afetam a puberdade de novilhas	20
2.2.1	Relação entre o peso corporal e a idade à puberdade.....	20
2.2.2	Estratégias nutricionais	22
2.2.2.1	Suplementação materna e programação fetal.....	22
2.2.2.2	Impressão metabólica e desmama precoce	22
2.2.2.3	Suplementação na recria.....	23
2.2.2.4	Crescimento compensatório.....	23
2.2.3	Hormônios e metabólitos influenciados pela nutrição.....	24
2.3	Aspectos genéticos que afetam a puberdade de novilhas.....	25
2.3.1	Raça	25
2.3.2	Paternidade	26
2.4	Protocolos hormonais para Indução da primeira ovulação em novilhas	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1	LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS	29
3.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
3.3.1	Tratamentos experimentais	31
3.3.2	Protocolos hormonais.....	32
3.3.2.1	Protocolo para indução da primeira ovulação	33
3.3.2.2	Protocolo de IATF.....	34
3.4	Avaliações reprodutivas	35
3.5	Manejo Alimentar	36
3.5.1	Dietas experimentais	36
3.5.2	Análises bromatológicas.....	37
3.6	MENSURAÇÕES CORPORAIS.....	38

3.6.1	Peso corporal (PC).....	38
3.6.2	Ultrassonografia de carcaça.....	38
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	39
4	RESULTADOS	39
5	DISCUSSÃO	57
6	CONCLUSÕES.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva determina o sucesso de uma fazenda do sistema de cria. Especificamente sobre as novilhas, a idade com que são expostas à reprodução pode elevar significativamente a lucratividade do sistema, pois a redução na idade ao primeiro parto (IPP) antecipa o retorno financeiro, aumenta a vida produtiva das vacas e aumenta a produção de kg de bezerros (LESMEISTER; BURFENING; BLACKWELL, 1973; NUNEZ-DOMINGUEZ et al., 1991). Todavia, a antecipação das novilhas nas estações reprodutivas depende do seu status puberal. Novilhas púberes estão aptas a se reproduzirem e apresentam melhores taxas de concepção que novilhas pré-púberes (ALVES, 2020).

A puberdade é um evento endócrino multifatorial, que sofre influência de diversos fatores genéticos (raça, aptidão, genealogia), nutricionais (nutrição nas fases fetal, cria e recria, composição dietética; restrição alimentar) e ambientais (bioestimulação, fotoperíodo, sazonalidade de alimentos, grupos sociais) (MORAN; QUIRKE; ROCHE, 1989; PERRY, 2016; D'OCCHIO; BARUSELLI; CAMPANILE, 2018). Novilhas Nelore são sexualmente mais tardias que raças taurinas (DAY; NOGUEIRA, 2013), atingindo a puberdade ao redor dos 2 anos de idade (NOGUEIRA, 2004). Além disso, ao longo dos anos a seleção genética desvinculada de precocidade sexual e os sistemas de criação extensivos e a sazonalidade da produção de forragem no Brasil são desafios para antecipação de puberdade em novilhas Nelore (FARIA et al., 2009; FERRAZ; FELÍCIO, 2010).

Para contornar alguns mecanismos endócrinos que não seriam ativados para o atingimento da puberdade na idade desejada, biotécnicas foram desenvolvidas a fim de antecipar a primeira ovulação de novilhas (GONZALEZ-PADILLA; NISWENDER; WILTBANK, 1975). Protocolos à base de progesterona (P4) tem sido usados como estratégia para induzir novilhas pré-púberes à primeira ovulação (RODRIGUES et al., 2013), pois tem a função de sensibilizar o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e desencadear processos que culminam em uma ovulação (ANDERSON; McDOWELL; DAY, 1996; DAY; ANDERSON, 1998), e por esse motivo são comumente chamados de protocolos de “indução de puberdade”.

No cenário atual, propriedades com foco em precocidade sexual tem exposto as novilhas à reprodução entre 12 e 14 meses (chamadas “super precoces” ou “precocinhas”), a fim de se obter o primeiro parto com 2 anos de vida. Entretanto,

como um percentual muito baixo de novilhas Nelore está ciclando nessa idade, é necessário um maior aporte nutricional e um protocolo hormonal à base de P4 antes dos protocolos de sincronização de ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), para induzir uma primeira ovulação. Quando o primeiro protocolo hormonal (indução de primeira ovulação) resulta em um corpo lúteo (CL) no início do protocolo para IATF, há melhora na taxa de concepção de novilhas de 14 meses (MARTINS et al., 2021).

Sabe-se que os protocolos com P4 são eficientes para induzir a ovulação mesmo em novilhas muito novas (abaixo dos 14 meses), entretanto, por se tratar de uma categoria com animais em desenvolvimento corporal (baixa idade e baixo peso), alguns desafios são encontrados. Elevadas taxas de perda gestacional precoce tem sido relatadas em novilhas Nelore de 14 meses de idade, mesmo quando a resposta aos protocolos de sincronização de ovulação é alta (PERES, 2019). Provavelmente, o sistema endócrino-reprodutivo não está apto a manter a gestação de um percentual considerável de novilhas dessa categoria. Outro fator observado nessa categoria são as taxas de concepção variáveis e muitas vezes abaixo de 50% na primeira IATF (FELISBINO NETO, 2021; GALINDEZ, 2022). Além disso, a ausência de CL após a primeira IATF em novilhas Nelore diagnosticadas como vazias, pode indicar que algumas novilhas retornam ao anestro e não mantêm a ciclicidade, mesmo após a exposição à P4 (FELISBINO NETO, 2021; GALINDEZ, 2022).

A partir desses relatos, hipotetizamos que um percentual de novilhas Nelore pré-puberes ovulam quando expostas a protocolos hormonais, porém não mantêm a ciclicidade. Hipotetizamos também que a taxa de manutenção de ciclicidade das novilhas será afetada pelo número de exposição aos protocolos hormonais e pela genética paterna. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a taxa de ovulação e a manutenção da ciclicidade de novilhas Nelore, submetidas à aplicação de um ou mais protocolos hormonais a partir de 14 meses de idade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PUBERDADE

2.1.1 Definição de puberdade em novilhas

A puberdade é definida como o momento em que o animal torna-se capaz de reproduzir, marcando o início da vida reprodutiva. Para novilhas, o processo de puberdade é marcado pela primeira ovulação (RAWLINGS et al., 2003), a expressão do comportamento estral e o estabelecimento de ciclo estrais regulares, com manutenção de um CL funcional com tempo de vida normal (KINDER et al., 1987; MORAN; QUIRKE; ROCHE, 1989). Metodologicamente, a puberdade em novilhas tem sido estabelecida com base na detecção do primeiro CL. Outras metodologias adotam a concentração de P4 circulantes acima de 1 ng/ml ou 2 ng/ml para considerar as novilhas como púberes, em duas amostras com intervalo de uma semana (NELSEN et al., 1985; COOKE; ARTHINGTON, 2008). Outra metodologia aplicada para a definição de puberdade é a junção da identificação de CL com a mensuração da concentração de P4. Entretanto, muitas vezes essas metodologias são realizadas em um único ponto, sem acompanhamento posterior da atividade lútea e manutenção da ciclicidade. À campo, é comum haver apenas uma avaliação ultrassonográfica antes da EM. Em novilhas Nelore é relatado que o primeiro ciclo estral pode ser curto, seguido de ciclos regulares, sendo que as concentrações de P4 podem ficar acima de 1 ng/mL por menos de 10 dias no primeiro ciclo (NOGUEIRA, 2004; PERRY, 2012).

A fase em que a novilha atinge seu máximo potencial reprodutivo é chamada de maturidade sexual, e é evidenciada pelo aumento da manifestação do estro e da fertilidade (BYERLEY et al., 1987). Pode haver uma maturação pós-púbere evidenciada pela maior fertilidade obtida após três estros no início da puberdade (PERRY, 2012). É relatado que a maturidade sexual ocorre aproximadamente 40 a 60 dias após o início da puberdade, período que compreende dois a três ciclos estrais, com atividade luteal normal (SANTOS; SÁ FILHO, 2006). Quando a fêmea está sexualmente madura, entende-se que o crescimento gonadal e corporal se estabilizaram e que o sistema endócrino é plenamente competente (AUSTIN; SHORT, 1984).

2.1.2 Mecanismos endócrinos na puberdade de novilhas

Uma série de mecanismos endócrinos está envolvida no processo de puberdade. A teoria gonadostática foi desenvolvida com base nos estudos conduzidos com animais *Bos taurus* e propõe que o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal está fisiologicamente maduro desde os primeiros meses de idade. Nesta fase já existe atividade folicular com produção de estradiol (E2), entretanto, na fase pré-pubere, o E2 exerce ação inibitória (*feedback negativo*) sobre o hipotálamo, e consequentemente na liberação de GnRH. Dessa forma, não há pico de GnRH para gerar, na hipófise, um pico de liberação de hormônio luteinizante (LH) que culminaria na primeira ovulação. Por atuarem diretamente no processo de ovulação, o GnRH e LH são fatores endócrinos primários para estabelecimento da puberdade de novilhas (DAY et al., 2010). Com o aumento da idade, as estruturas reprodutivas vão se tornando mais competente, havendo maior crescimento folicular (MONTEIRO et al., 2013) e consequentemente maior produção de E2. Há também uma maturação do hipotálamo, ao passo em que a resposta ao E2 vai se invertendo, de *feedback* negativo para *feedback* positivo, culminando em uma liberação de GnRH e, consequentemente, pico de LH que resulta na primeira ovulação (DAY et al., 1987).

2.1.3 Puberdade de novilhas de corte no cenário nacional

A pecuária de corte aumentou a produtividade em 176% de 1990 até 2018 enquanto a área de pastejo regrediu 15%, principalmente devido ao uso de manejo e biotecnologias (ABIEC, 2020). O número de fêmeas expostas à IATF aumentou consideravelmente nos últimos 20 anos, com taxa de crescimento anual composta de 31,8% (BARUSELLI, 2023), sendo possível inferir que nesses últimos anos houve maior utilização de touros com provas genéticas. Entretanto, para que ocorra maior retorno produtivo, as novilhas devem ser expostas mais cedo à reprodução, uma vez que são improdutivas até que produzam o primeiro bezerro. Portanto, um limitante para maior desenvolvimento da pecuária de corte é a idade elevada das fêmeas ao primeiro parto, pois retarda o retorno financeiro à propriedade rural (NUNEZ-DOMINGUEZ et al., 1991).

A idade ao primeiro parto (IPP) no rebanho brasileiro é elevada, ao redor dos 40 meses de idade (NOGUEIRA, 2004), enquanto países como os EUA apresentam o índice de IPP médio próximo de 24 meses (DAY, 2015). No Brasil, a criação de bovinos de corte é majoritariamente realizada em sistema extensivo à pasto (FERRAZ; FELÍCIO, 2010). Além disso, em muitas fazendas não são realizados manejos de pastagens e suplementação, o que compromete o desenvolvimento das novilhas e resulta em idade elevada à puberdade (NOGUEIRA, 2004). Além disso, as estações de monta (EM), são utilizadas para concentrar os nascimentos, programar os manejos e otimizar a mão de obra, e são definidas de acordo com a sazonalidade de chuvas e produção de forragens. Isso faz com que as novilhas que não estejam aptas para a primeira EM após a desmama sejam expostas à reprodução apenas no próximo ano. Dessa forma, a elevada IPP é resultado da exposição tardia das fêmeas à reprodução, uma vez que as novilhas atingem a puberdade ao redor dos 22-36 meses. Entretanto, para que as fêmeas de corte tenham o maior desempenho reprodutivo ao longo da sua vida produtiva, o ideal é que ela seja exposta à reprodução antes de dois anos de idade (NUNEZ-DOMINGUEZ et al., 1991).

Na EM com touros ou IA convencional, apenas as novilhas púberes têm a chance de se tornar gestantes, pois precisam manifestar o estro. Na IATF, o protocolo hormonal pode induzir novilhas pré-púberes à primeira ovulação, aumentando a taxa de serviço (CLARO JÚNIOR et al., 2010; RODRIGUES et al., 2013). De qualquer forma, em ambos os casos, pode-se realizar tratamento hormonal à base de P4, anterior à EM, com intuito de induzir a primeira ovulação das novilhas. Assim, os protocolos hormonais são uma ferramenta eficaz para elevar a taxa de serviço das novilhas na EM, entretanto, não resolvem o real problema da puberdade tardia que está relacionado principalmente à genética e ao manejo nutricional.

2.2 ASPECTOS NUTRICIONAIS QUE AFETAM A PUBERDADE DE NOVILHAS

2.2.1 Relação entre o peso corporal e a idade à puberdade

Idade e peso são características simples, que não demandam muita tecnologia para sua obtenção e mensuração, e que podem auxiliar nas decisões sobre a puberdade e o início da vida reprodutiva de novilhas (SÁ FILHO et al., 2008). Esses dois fatores precisam ser complementares para a obtenção de um bom resultado, seja

a antecipação da puberdade, antecipação de exposição a protocolos hormonais ou mesmo seleção genética. Uma novilha muito nova com elevado PC não atingirá, necessariamente, bons resultados reprodutivos, assim como uma novilha de idade avançada mas com baixo PC. Devido à evolução da seleção genética e evolução nutricional, principalmente, tem sido observado ao longo dos anos uma redução na idade e peso à puberdade de novilhas Nelore. Historicamente, novilhas Nelore eram expostas à reprodução com 24 ou 36 meses de idade (SOUZA et al., 1995), e pesando acima de 300 kg (DAY; NOGUEIRA, 2013). Hoje, existe uma tendência em expor as novilhas Nelore à reprodução até os 15 meses de idade, e há relatos de puberdade atingida abaixo de 14 meses e 252 kg (FREITAS et al., 2021).

Existem diferenças na idade à puberdade entre as raças bovinas, mesmo que os mecanismos endócrinos sejam os mesmos (HAFEZ; HAFEZ, 2004; ARANA, 2015). Geralmente as raças taurinas são mais precoces do que as raças zebuínas, tomando por exemplo a raça Holandesa, *Bos taurus*, que geralmente é exposta à reprodução com 12 meses de idade (GLENCROSS, 1984), e tem primeiro parto ao redor de 25 meses de idade (SÁ FILHO et al., 2008). Já na raça Nelore, *Bos indicus*, apesar de haver uma tendência em selecionar para precocidade sexual, a exposição à reprodução comumente ocorre ao redor de 22 e 36 meses de idade, e o primeiro parto entre 44 e 48 meses de idade (SOUZA et al., 1995).

Em relação ao PC, as raças taurinas, na média, atingem a puberdade ao redor de 250 a 320 kg (HAFEZ; HAFEZ, 2004), enquanto novilhas zebuínas iniciam a atividade reprodutiva ao 300 a 330 kg (WILTBANK et al., 1985). No passado, consideravam 270 kg o peso base para a novilha atingir a puberdade e ser exposta à reprodução, enquanto que abaixo desse PC (270 kg), havia menor frequência de estro e redução nos índices de concepção (PIMENTEL et al., 1981). Segundo o National Research Council (NRC) o peso indicado para iniciar a atividade reprodutiva em novilhas da raça *Bos indicus* é de 65% do PC adulto e para novilhas de raças taurinas, 60% (NRC, 1996).

Havendo grande influência do PC na puberdade de novilhas, estratégias nutricionais são capazes de alterar o início da vida reprodutiva das futuras matrizes (MORIEL et al., 2017). Um manejo nutricional deficiente, como o baixo ganho de peso durante a fase de recria, pode comprometer o desenvolvimento das novilhas e há redução da frequência de LH (DAY et al., 19877), corroborando para a manifestação mais tardia da puberdade e baixo desempenho reprodutivo (VASCONCELOS et al.,

2003; AZEVEDO et al., 2006). Por outro lado, investir em estratégias nutricionais pode reduzir a idade de exposição à programas reprodutivos (SOUZA et al., 1995), uma vez que ocorrem modificações no sistema reprodutivo como o aumento dos folículos e da secreção de LH (DAY et al., 1987; GASSER, 2013). Ainda que as novilhas sejam sexualmente tardias, a melhoria do aporte nutricional pode reduzir a idade das novilhas à puberdade para 18 a 20 meses (SANTOS; SÁ FILHO, 2006), passando de 3 para 2 anos a idade à primeira estação aumentando a produção de bezerros por matriz (SOUZA et al., 1995).

Além do PC, a composição corporal focada na deposição de gordura pode ser um indicador de maior sucesso reprodutivo nas novilhas. Novilhas que apresentam maior escore de condição corporal (ECC) atingem a puberdade em idade inferior à novilhas de menor ECC (PEREIRA et al., 2017). Além disso, a exigência de determinados mercados para obtenção de carne mais magra, selecionando animais com menor proporção de gordura na carcaça pode estar selecionando animais com maior peso maduro, conseqüentemente elevando a idade à puberdade (BERG; WALTERS, 1983; MACNEIL et al., 1984).

2.2.2 Estratégias nutricionais

2.2.2.1 Suplementação materna e programação fetal

A suplementação materna com foco em reduzir a idade à puberdade da progênie, tem por objetivo influenciar o desenvolvimento fetal (BARKER et al., 1993), a que se dá o nome de “programação fetal”. A nutrição fetal no terço médio da gestação pode afetar a formação da reserva folicular do feto (RHIND; RAE; BROOKS, 2001; FORTUNE, 2003). No terço final de gestação, a nutrição fetal afeta desde o desenvolvimento da progênie até a performance reprodutiva na fase adulta (FUNSTON et al., 2010), uma vez que o maior desenvolvimento fetal se dá nessa fase. Entretanto, Nepomuceno et al. (2017) não observaram redução na idade à puberdade de novilhas Nelore cujas vacas tiveram suplementação no terço final de gestação.

2.2.2.2 Desmama precoce e impressão metabólica

O termo desmama precoce está relacionado ao desaleitamento de bezerras alguns meses antes do convencional na intenção de favorecer o desempenho da vaca. Entretanto, desmamar precocemente as novilhas e submetê-las à dietas ricas em concentrado pode causar modificações epigenéticas, a que denominamos impressão metabólica (*metabolic imprinting*) que podem alterar o desempenho reprodutivo a longo prazo (WATERLAND; GARZA, 1999; HANLEY, 2010; MORIEL et al., 2014). O aporte nutricional deve ser aumentado entre 3 e 7 meses de idade, e os efeitos da impressão metabólica podem favorecer a antecipação da maturidade ovariana e aumento na duração das ondas de desenvolvimento folicular (HANLEY, 2010; GASSER et al., 2006a; GASSER et al., 2006b; GASSER et al., 2006c). Um estudo avaliou a estratégia de *creep-feeding* em novilhas Nelore na fase de cria, entretanto, não foram observados efeitos na idade à puberdade (NEPOMUCENO et al., 2017).

2.2.2.3 Suplementação na recria

A recria de novilhas é realizada à pasto, sendo que durante o período de baixa disponibilidade de forragem, pode haver redução do consumo e/ou do valor nutricional da pastagem, acarretando em subnutrição. Nepomuceno et al. (2017) mostraram que o tamanho médio do folículo ovariano em novilhas Nelore pré-púberes está relacionado à condição nutricional do animal, sendo maior na época chuvosa, com mais disponibilidade de forragens. Além disso, os mesmos autores demonstraram que o aumento do nível nutricional das novilhas pós-desmame antecipou o aparecimento de puberdade e aumentou a taxa de puberdade aos 18 meses. Estudos avaliando a suplementação de novilhas na recria observaram antecipação da idade à puberdade, aumento da manifestação de estro e taxa de prenhez (YELICH et al., 1995; VAZ et al., 2012).

2.2.2.4 Crescimento compensatório

Após um período de restrição alimentar e déficit energético a secreção de LH é negativamente afetada (DAY et al., 1987), enquanto que em situações de maior aporte calórico há um maior desenvolvimento folicular e a secreção de LH é aumentada (DAY et al., 1987; GASSER, 2013). Novilhas que passaram por um período de alimentação

restritiva seguido por um período de compensação (ganho compensatório), reduziram a idade à puberdade (YELICH et al., 1995; CARDOSO et al., 2014). Em novilhas Nelore, a restrição alimentar seguida de um maior aporte energético resultou na mesma taxa de puberdade de novilhas que não sofreram restrição alimentar, resultando em uma estratégia mais econômica (MISZURA et al., 2021).

2.2.3 Hormônios e metabólitos influenciados pela nutrição

Diversos hormônios e mediadores endócrinos como IGF1, insulina, glicose, leptina, grelina, glicose, podem ser influenciados pela nutrição, atuando no eixo hipotalâmico-hipofisário (HALL et al., 1995; WILLIAMS et al., 2002). A secreção de GnRH, pelo hipotálamo, e consequentemente de FSH e LH, pela hipófise, é que antecede a ovulação e marcam o início da vida reprodutiva. Estratégias nutricionais na fase de pré-puberdade podem aumentar a pulsatilidade de LH que ocorrem na peripuberdade, resultando em aumento do diâmetro folicular, maior pico secretório de E2 e antecipação da primeira ovulação (AMSTALDEN et al., 2011; NEPOMUCENO et al., 2017).

Ferraz et al. (2018) constataram que novilhas Nelore que receberam dietas com 2,9 Mcal de energia metabolizável atingiram a puberdade em idade inferior às novilhas que receberam dietas com 1,6 Mcal. Miszura et al. (2021) obtiveram resultados similares quando restringiram a dieta às novilhas Nelore, que atingiram a puberdade em idade mais elevada em relação às novilhas que receberam dieta *ad libitum*. Em ambos estudos os animais dos tratamentos com menor aporte nutricional obtiveram menores taxas de puberdade ao fim do estudo. Estudos conduzidos com animais taurinos demonstraram que a puberdade é antecipada quando novilhas são alimentadas com dieta de alta inclusão de concentrado em relação à dieta volumosa (GASSER et al., 2006a; GASSER et al., 2006b; MORIEL et al., 2014), quando a dieta é rica em amido (CICCIOLI et al., 2005) ou suplementada com aditivos ionóforos (LALMAN et al., 1993).

Dietas ricas em carboidratos geram mais glicose, que é a principal fonte de energia para os ovários e também está envolvida na modulação da liberação de LH (MEDINA et al., 1998). A insulina regula as concentrações de glicose, regulando respostas fisiológicas (FOULADI-NASHTA; CAMPBELL, 2006). Além disso, a insulina está envolvida no desenvolvimento, manutenção e crescimento dos folículos

ovarianos (LOUHIO et al., 2000; SHIMIZU et al., 2008). O IGF1, por exemplo, estimula as fases pré-antral e antral do desenvolvimento folicular em sinergismo com o FSH, atuando na produção de E2 e crescimento folicular (ARMSTRONG; BENOIT, 1996; FORTUNE et al., 2004), além de aumentar receptores para gonadotrofinas (LUCY, 2000). O IGF1 também se expressa em neurônios hipotalâmicos (DAFTARY; GORE, 2004), e pode estar relacionado à secreção de GnRH e gonadotrofinas. A leptina aumenta com maior deposição de gordura e é um sinalizador de *status* energético. Quando aumentada, pode estimular secreções de GnRH e gonadotrofinas, enquanto reduz os efeitos da insulina, IGF1 e E2 (WILLIAMS et al., 2002; BARB; KRAELING, 2004; DE LA GALLEGOS HOYA et al., 2015). Já a grelina aumenta com o déficit energético e restrição alimentar, reduzindo concentrações plasmáticas de leptina e insulina (KOWALSKI et al., 2014).

2.3 ASPECTOS GENÉTICOS QUE AFETAM A PUBERDADE DE NOVILHAS

2.3.1 Raça

O rebanho de bovino brasileiro tem aproximadamente 224,6 milhões de cabeças (IBGE, 2022) e é composto predominantemente pela raça Nelore ou animais anelorados (NOGUEIRA, 2004). A idade à puberdade é inerente à raça, havendo grande diferença entre taurinos e zebuínos, largamente documentado em diversos trabalhos. Sabe-se que *Bos indicus* são mais tardios sexualmente que *Bos taurus*, e por essa razão, podemos considerar a raça Nelore como um dos motivos para a elevada idade à puberdade. Além disso, a seleção da raça Nelore no Brasil foi por muitos anos focada na padronização racial, negligenciando a precocidade sexual e aumentando a consanguinidade, o que também pode afetar características de caráter reprodutivo (MC PARLAND et al., 2007, FARIA et al., 2009). Apesar do avanço em seleção genética para características reprodutivas ser notório nos últimos anos, os programas de melhoramento genético ainda tem muita oportunidade para avançar neste quesito nos próximos anos (ELER et al., 2010).

Estudos com novilhas *Bos taurus* observaram taxa de puberdade superior à 80% aos 8 meses de idade, quando novilhas receberam dietas com elevado teor nutricional (GASSER et al., 2006a; GASSER et al., 2006b; GASSER et al., 2006c). Por outro lado, submeter novilhas *Bos indicus* a dietas com alta energia pode reduzir

a idade à puberdade, porém, são consideradas precoces animais até os 15 meses de idade (NOGUEIRA, 2004). Outros trabalhos em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* mostraram um aumento na idade à puberdade à medida em que se aumentava o grau de sangue zebuíno (WEEKLEY et al., 1993; PEREIRA et al., 2017).

2.3.2 Genética dos progenitores

Além da raça, a genética dos progenitores influencia diretamente a idade à puberdade dentro de uma mesma raça, sendo demonstrada em estudos mais recentes. Nepomuceno (2013) avaliou a puberdade de novilhas Nelore aos 18 meses de idade e observou, em 13 reprodutores, variações na taxa de puberdade de 58% a 0%. Miszura et al. (2021) também relataram influência da genética do touro na porcentagem de novilhas Nelore púberes aos 18 meses de idade, variando de 83% a 26%, independente do tratamento nutricional.

A seleção genética baseada em características reprodutivas de mérito genético do progenitor tem aumentado ano após ano (FERRAZ; ELER, 2007), utilizando a diferença esperada na progênie (DEP). As DEPs mais utilizadas e correlacionadas com precocidade sexual são circunferência escrotal (CE), IPP e probabilidade de prenhez aos 14 meses (PP14) (MARTIN et al., 1992).

Apesar de boa herdabilidade da DEP para CE, a mensuração da CE deve ser realizada em animais mais jovens, evitando mensurações em idades distintas (JOHNSTON et al., 2014; SANTANA et al., 2015). A IPP é interessante para seleção de novilhas precoces, pois essa é uma característica mensurada nas fêmeas, diferentemente da CE (EVANS et al., 1999). Entretanto, pode haver um viés determinado pela exposição à reprodução. A PP14 tem a vantagem de ser mensurada em novilhas expostas à reprodução aos 14 meses, além de apresentar alta herdabilidade (PEREIRA et al., 2001; ELER et al., 2002; FERRAZ et al., 2007). A DEP 3P é mensurada em novilhas expostas à reprodução com 12 e 21 meses de idade, e recebem uma nota de sucesso (1) ou fracasso (0). Entretanto, sugere-se que todas as novilhas contemporâneas sejam desafiadas ao mesmo tempo para aumentar a acurácia dos dados gerados (SILVA et al., 2005; PATERNO, 2015). Mais recente, a seleção genômica baseada em marcadores do tipo polimorfismos de nucleotídeo de sítio único (SNP) tem a vantagem de desconsiderar a influência ambiental e dificuldades de manejo, por exemplo (HAYES et al., 2001). Essa ferramenta gera a

predição de DEPs mais precisas com um menor volume de dados, favorecendo a seleção baseada em precocidade sexual.

Barroso et al. (2023) avaliaram o efeito da DEP para CE de touros Nelore na idade à puberdade de novilhas cruzadas Angus x Nelore e observaram menor idade à puberdade em novilhas filhas de touros sexualmente precoces. Ferraz et al. (2018) demonstraram que novilhas Nelore filhas de touros com DEP de IPP positiva para precocidade sexual apresentaram puberdade mais precocemente em relação às novilhas filhas de touros com avaliação negativa. Apesar dos trabalhos recentes destacarem a importância genética na puberdade, os trabalhos clássicos e a maioria dos trabalhos que estudaram o efeito nutricional na puberdade desconsideraram o efeito genético dos progenitores.

2.4 PROTOCOLOS HORMONAIS PARA INDUÇÃO DA PRIMEIRA OVULAÇÃO EM NOVILHAS

Por muitos anos novilhas zebuínas foram expostas à reprodução com 21 a 24 meses de idade e 60 a 65% do peso adulto, utilizando-se o conceito de idade e peso mínimos. O limitante para a reprodução, entretanto, era a baixa taxa de puberdade em novilhas com idade e peso inferiores. Atualmente, a idade e o peso das novilhas expostas à reprodução reduziram expressivamente, sendo que as novilhas têm sido expostas à reprodução entre 11 e 14 meses de idade e PC inferior a 300 kg (PERES, 2019; FREITAS et al., 2021). Esse avanço só foi possível pelo melhoramento genético, avanços no manejo nutricional e sanitário, aliados aos protocolos de hormonais.

Ao longo dos anos foram descritos alguns protocolos hormonais para induzir a primeira ovulação em novilhas utilizando P4 natural ou sintética (ANDERSON; McDOWELL; DAY, 1996; IMWALLE; PATTERSON; SCHILLO, 1998), em combinação com E2 e seus diferentes ésteres (RASBY et al., 1998), GnRH e seus análogos (MADGWICK; EVANS; BEARD, 2005) ou prostaglandinas (PGF₂α) e seus análogos (PFEIFER et al., 2009). Foi sugerido que a P4 atua na redução dos receptores hipotalâmicos de E2, reduzindo o *feedback* negativo que bloqueia a liberação de GnRH (DAY e ANDERSON, 1998).

As taxas de puberdade obtidas após os protocolos de indução são variáveis podendo atingir até 100% em alguns estudos (IMWALLE; PATTERSON; SCHILLO,

1998). Resultados mostraram que a utilização de dispositivos intravaginais (DIV) de P4 por 5 dias foram mais eficientes (31% vs 73%) em induzir a puberdade de novilhas Angus quando associados à PGF2 α . Claro Júnior et al. (2010) relataram maiores taxas de estro aos 45 dias da EM em novilhas Nelore que receberam DIV reutilizados (9 e 27 dias de uso), ou seja, com baixas concentrações de P4, comparadas a novilhas que receberam DIV novo (altas concentrações de P4). Rodrigues et al. (2013) obtiveram taxa de ovulação média de 88% após protocolo de 12 dias com DIV previamente utilizado por 27 dias. Além disso, foram observadas maiores taxas de concepção quando o protocolo para IATF iniciou aos 12 ou 14 dias após o término do protocolo de indução, comparado a 10 dias (RODRIGUES et al., 2013).

Com o surgimento da P4 injetável de longa ação no mercado nacional, novos protocolos tem sido desenvolvidos por apresentarem maior praticidade e menor custo. Neto et al. (2016) relataram taxa de puberdade de 75% quando utilizaram 150 mg de P4 injetável e 12 dias após realizaram uma aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol (CE). Santos et al. (2019) relataram, em novilhas Nelore pré-púberes com 2 anos de idade, taxas de ciclicidade ao início da IATF de 80% com aplicação única de 150 mg de P4 sem associação de outro hormônio no protocolo ou com associação de CE no dia 12; entretanto, o grupo que utilizou DIV (previamente reutilizado por quatro vezes) e CE apresentaram 94% de ciclicidade, estatisticamente superior. Entretanto, apesar da aplicação de hormônio injetável ser um facilitador do manejo, pode haver variação da metabolização de P4 de acordo com o consumo de matéria seca (CMS) e da composição da dieta (SANGSRITAVONG et al., 2002), prolongando ou reduzindo os dias de efetividade da P4, o que pode ser melhor controlado com o DIV.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado e conduzido seguindo as diretrizes do Comitê de Estudos com o Uso de Animais (CEUA) da Universidade de São Paulo sob o protocolo nº 9274150720.

3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS

Foram utilizadas 213 novilhas da raça Nelore de $11,3 \pm 0,22$ meses e pesando $205,61 \pm 4,24$ kg (Figura 1). As novilhas foram adquiridas de fazendas comerciais dos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Paraná que utilizavam inseminação artificial (IA) e mantinham um rigoroso controle de dados zootécnicos relacionados à genealogia dos animais.

Figura 1 – Novilhas Nelores utilizadas no estudo



Legenda: A,B: Recepção de um dos lotes de novilhas no campus da ESALQ/USP; C,D: Chegada dos animais nas instalações do LNRA.

As novilhas foram alocadas nas instalações experimentais do confinamento de bovinos do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) - USP em Piracicaba.

3.2 PERÍODO EXPERIMENTAL

As novilhas ficaram alojadas aleatoriamente em 44 baias, equipadas com bebedouros e cochos, durante um período de adaptação (pré-experimental). As novilhas chegaram em três lotes e datas distintas, porém alojadas para o estudo no mesmo dia, sendo que o período de adaptação foi de 39, 38 e 31 dias, para cada um dos três lotes. Esse período não fez parte do estudo e foi utilizado tanto para adaptação ambiental (instalações e manejo diário) bem como para adaptação à dietas com elevado teor de concentrado, que foi feita com a redução gradual do teor de volumoso na dieta.

O estudo teve duração total de 240 dias (dia 0 marcou o início do estudo e dia 240 marcou o final do estudo), dividido em dois períodos: Período 1 e Período 2. O período 1 iniciou-se com a alocação dos animais e terminou previamente ao momento em que esses animais foram expostos à aplicação dos primeiros tratamentos (protocolos reprodutivos), compreendendo um total de 85 dias. Nesse período as novilhas foram alimentadas com o objetivo de atingirem a meta de 300 kg de PC no momento da aplicação do primeiro protocolo hormonal. O período 2 iniciou-se após a primeira aplicação dos tratamentos e encerrou após 155 dias. Nesse período, as novilhas foram alimentadas com uma dieta para ganho de PC moderado. As dietas experimentais serão descritas na seção 3.5.1 *Dietas experimentais*. Os bebedouros foram limpos diariamente e as baias foram limpas de duas a três vezes por semana.

3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental aplicado foi o de blocos incompletos casualizados. As novilhas foram blocadas de acordo com sua paternidade (12 touros classificados em catálogos de seleção genética da raça Nelore) e distribuídas entre os grupos experimentais em função da idade e do PC. Foram utilizados quatro tratamentos experimentais, abreviados de acordo com o número de exposições à

protocolos hormonais: Controle (0P4, n= 55), Indução (1P4, n = 52), Indução + 1 protocolo de sincronização de ovulação (2P4, n = 52) e Indução + 2 protocolos sincronização de ovulação (3P4, n = 54). No início do estudo, após o período de adaptação, as novilhas foram alojadas em 39 baias coletivas equipadas com cochos e bebedouros. Cada baia recebeu apenas um tratamento experimental, sendo que, 33 dessas baias alocaram 5 novilhas e outras 8 baias alocaram 6 novilhas (Figura 2).

Figura 2 – Novilhas Nelores alojadas nas instalações experimentais



Legenda: A: Novilhas alojadas nas instalações no período 1; B: Novilhas alojadas nas instalações no início do período 2; C: Alimentação das novilhas sendo oferecida com vagão misturador de ração; D, E: Novilhas alojadas nas instalações no período 2.

3.3.1 Tratamentos experimentais

Os tratamentos foram idealizados e definidos visando representar situações de manejo reprodutivos reais e serão descritos abaixo (Figura 3):

- **Controle (0P4):** As novilhas não foram submetidas a qualquer protocolo hormonal com P4 ou qualquer outro fármaco. Esse tratamento atuou como grupo controle negativo para comparação com os demais, apresentando ovulações espontâneas e puberdade fisiológica sem qualquer tipo de indução farmacológica;
- **Indução (1P4):** As novilhas receberam um protocolo à base de P4 (descrito na seção 3.3.2 *Protocolos hormonais*) aos 14 meses de idade. Comercialmente esse protocolo é utilizado à campo como indutor de ovulação em novilhas pré-púberes e é utilizado previamente aos protocolos de IATF para aumentar o número de novilhas com CL no início dos protocolos de IATF;

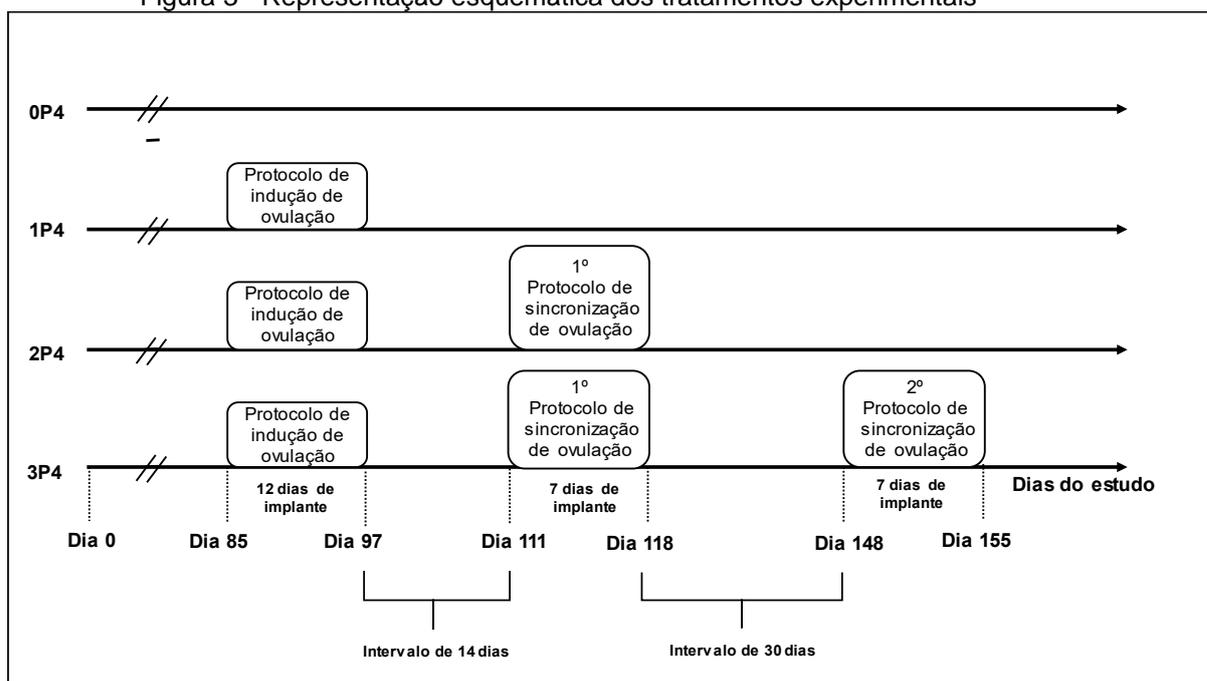
- **Indução + 1 protocolo de sincronização de ovulação (2P4):** As novilhas receberam dois protocolos à base de P4 (descritos na seção 3.3.2 *Protocolos hormonais*). Além do protocolo de indução aos 14 meses de idade, os animais desse tratamento receberam mais um protocolo à base de P4 (protocolo de sincronização de ovulação) 14 dias depois, mimetizando uma situação real em que as novilhas seriam expostas à IATF após o protocolo de “indução de puberdade”. Para a avaliação da ciclicidade após os protocolos, as novilhas não foram inseminadas após o protocolo de sincronização de ovulação;
- **Indução + 2 protocolos de sincronização de ovulação (3P4):** As novilhas receberam três protocolos à base de P4 (descritos na seção 3.3.2 *Protocolos hormonais*). Esse tratamento seguiu o proposto para o tratamento 2P4 com a inclusão de mais um protocolo à base de P4 30 dias depois, mimetizando uma situação à campo em que um segundo protocolo de IATF seria realizado em novilhas diagnosticadas como não prenhes 28 dias após o primeiro protocolo de IATF. Assim como no tratamento 2P4 os animais também não foram inseminados ao final dos protocolos de sincronização de ovulação.

A IA não foi realizada pois o objetivo desse estudo foi entender e relatar como é a resposta das novilhas na manutenção da ciclicidade após uma ou mais exposições a um protocolo hormonal.

3.3.2 Protocolos hormonais

Como as novilhas foram mantidas confinadas em baias coletivas, o cabo para a remoção do implante foi cortado para que as novilhas não puxassem umas das outras. Nos dias em que as novilhas estavam com o implante de P4, o piso das baias foi avaliado para identificar se algum implante havia sido removido dos animais.

Figura 3 - Representação esquemática dos tratamentos experimentais



Legenda: Tratamentos: OP4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

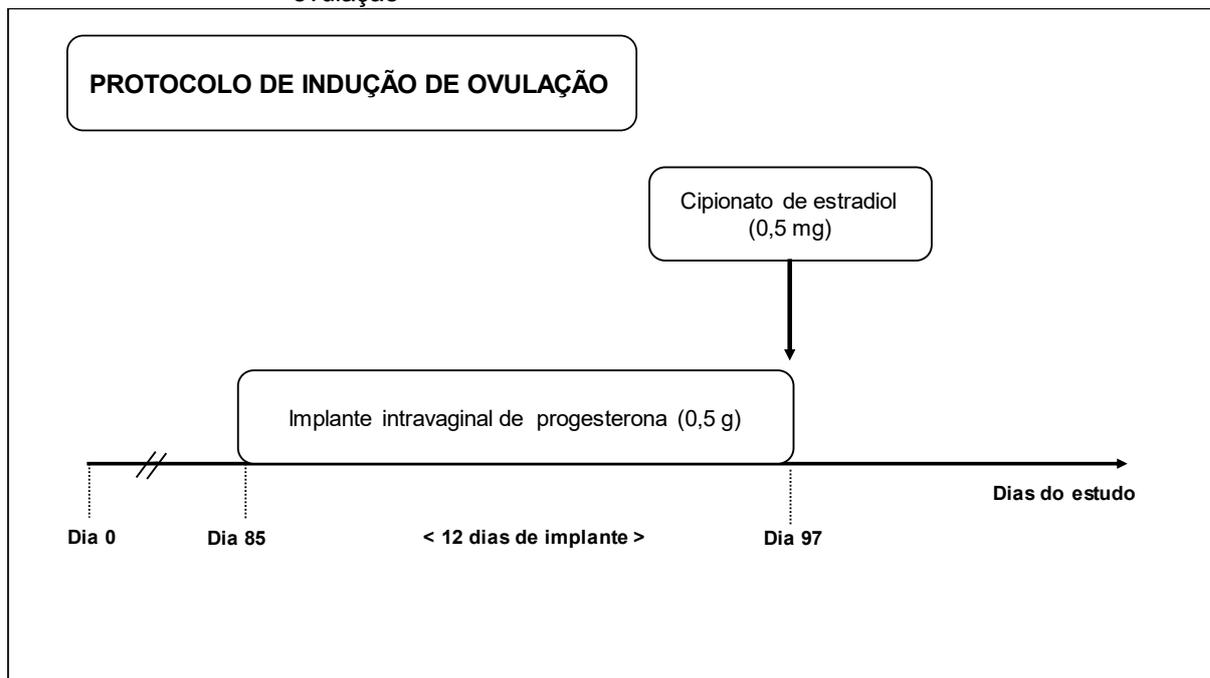
Protocolo de indução de ovulação: duração de 12 dias, com inserção do implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repto One®, Globalgen) no início do protocolo; retirada do implante de P4 com única aplicação IM de Cipionato de Estradiol (CE; 0,5 mg, Cipion®, Globalgen) no final do protocolo. Protocolo de sincronização de ovulação: duração de 7 dias, com implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repto One®, Globalgen) e aplicação de 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Syncrogen®, Globalgen) IM no início do protocolo. Retirada do implante de P4 após 7 dias com aplicação de 0,5 mg de CE (Cipion®, Globalgen), 0,526 mg de Cloprostenol sódico (PGF2 α , Induscio®, Globalgen) e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, eCGen®, Globalgen) por via IM.

3.3.2.1 Protocolo para indução da primeira ovulação

Os grupos experimentais 1P4, 2P4 e 3P4 foram submetidos a um protocolo hormonal à base de P4 no dia 85 do estudo, para mimetizar um protocolo para indução da primeira ovulação, que é realizado em novilhas pré-púberes antes da estação reprodutiva.

Esse protocolo teve duração de 12 dias (Figura 4) e a fonte de P4 utilizada foi implante intravaginal de baixa concentração (0,5 g, Repto One®, Globalgen). Na retirada do implante de P4 foi realizada uma única aplicação intramuscular (IM) de 0,5 mg de CE (Cipion®, Globalgen).

Figura 4 - Representação esquemática do protocolo de indução de primeira ovulação

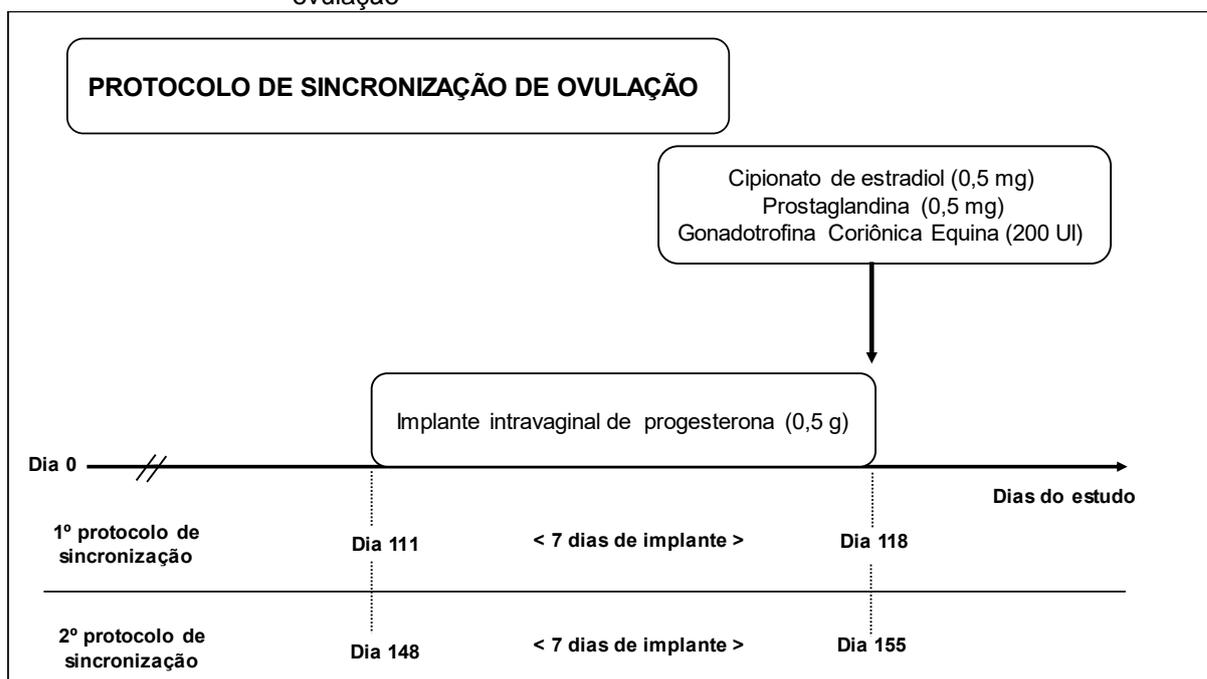


Protocolo de indução de ovulação: duração de 12 dias, com inserção do implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repto One®, Globalgen) no início do protocolo; retirada do implante de P4 com única aplicação IM de Cipionato de Estradiol (CE; 0,5 mg, Cipion®, Globalgen) no final do protocolo. Protocolo utilizado nos tratamentos 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal à base de P4; 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais à base de P4; 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais à base de P4.

3.3.2.2 Protocolo de sincronização de ovulação

O grupo experimental 2P4 foi submetido à um protocolo hormonal de sincronização de ovulação 14 dias após o protocolo de indução de primeira ovulação. O grupo experimental 3P4 foi submetido à um protocolo hormonal de sincronização de ovulação 14 dias após o protocolo de indução de primeira ovulação, e após 30 dias foi submetido a um segundo um protocolo hormonal de sincronização de ovulação. O protocolo de sincronização de ovulação utilizado nos grupos 2P4 e 3P4 teve duração de 7 dias (Figura 5). No início do protocolo de sincronização de ovulação foi inserido um implante de baixa concentração de P4 (0,5 g, Repto One®, Globalgen) e aplicado 2,0 mg de BE (Syncrogen®, Globalgen) por via IM. Sete dias após o início desse protocolo, o implante de P4 foi removido e foram aplicados 0,5 mg de CE (Cipion®, Globalgen), 0,526 mg de Cloprostenol sódico (PGF2 α , Induscio®, Globalgen) e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, eCGen®, Globalgen) por via IM.

Figura 5 - Representação esquemática do protocolo de sincronização de ovulação



Protocolo de sincronização de ovulação: duração de 7 dias, com implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repro One®, Globalgen) e aplicação de 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Syncrogen®, Globalgen) IM no início do protocolo. Retirada do implante de P4 após 7 dias com aplicação de 0,5 mg de CE (Cipion®, Globalgen), 0,526 mg de Cloprostenol sódico (PGF2 α , Induscio®, Globalgen) e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, eCGen®, Globalgen) por via IM. Protocolo utilizado uma vez no tratamento 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais; e utilizado duas vezes no tratamento 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais.

3.4 AVALIAÇÕES REPRODUTIVAS

Todas as novilhas foram submetidas semanalmente à ultrassonografia transretal do aparelho reprodutor para identificação de CL e acompanhamento da ciclicidade. Foi utilizado o aparelho de ultrassonografia DP-20® (Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen) com probe linear de 7,5 MHz. As avaliações ultrassonográficas iniciaram no dia 7 do estudo (7 dias após a alocação dos animais) e encerraram no último dia do estudo (dia 240). Objetivou-se dessa forma, identificar as novilhas que pudessem se tornar púberes antes da aplicação dos tratamentos experimentais. Novilhas identificadas como ovuladas (n=3) antes da aplicação do protocolo de indução de primeira ovulação foram desconsideradas nas avaliações de taxa de ovulação como repostas ao protocolo. Após a aplicação dos protocolos reprodutivos, a avaliação ultrassonográfica ocorreu 7 dias após a retirada do implante de P4. As novilhas foram consideradas em anestro quando não apresentaram um CL por um período mínimo de 4 semanas e, portanto, não foram contabilizadas como

púberes. Os CL foram identificados semanalmente para acompanhar a ciclicidade e mensurados 7 dias após a retirada do implante de P4 afim de se identificar a taxa de ovulação, e foram comparados entre os grupos que receberam protocolos hormonais. O volume do CL foi mensurado à partir da fórmula: $Volume\ CL = 4/3\pi R^3$. Quando foi detectado alguma cavidade no CL esta foi descontada utilizando a mesma fórmula do volume do CL. Além do CL, ao exame ultrassonográfico foram avaliados os folículos e útero. Os folículos ovarianos foram mensurados 2 dias após a retirada do implante de P4 afim de se identificar o diâmetro do folículo pré-ovulatório, e foram comparados entre os grupos que receberam protocolos hormonais. O diâmetro médio do maior folículo ovariano foi obtido através da média de duas medidas de diâmetro perpendiculares entre si. O diâmetro uterino foi mensurado antes da exposição aos protocolos de indução de ovulação e no momento da retirada do implante de P4, em cada um dos protocolos hormonais, em todos os grupos experimentais. O diâmetro uterino foi obtido pela mensuração do diâmetro médio do corno uterino direito, em sua região proximal imediatamente após a bifurcação dos cornos uterinos, considerando todas as camadas musculares do útero.

3.5 MANEJO ALIMENTAR

Todos animais receberam a mesma dieta, referente ao período experimental, e foram alimentados uma vez ao dia, pela manhã. As novilhas tiveram alimentação *ad libitum*, bem como acesso à água tratada. As baias recebiam a dieta com base em leitura de cocho realizada previamente ao momento da oferta. A leitura de cocho tinha por objetivo manter uma sobra entre 10% e 5% no cocho para o dia seguinte, e dessa forma foi aumentada ou diminuída a quantidade de ração ofertada diariamente. Os ingredientes das dietas foram misturados diariamente com auxílio de vagão misturador de dieta total (Delaval®) equipado com balança eletrônica com precisão de 1 kg. Sobras foram retiradas do cocho no final de cada período para cálculo de CMS e eficiência alimentar (EA) no período.

3.5.1 Dietas experimentais

As dietas foram formuladas pelo *Beef Cattle Nutrient Requirements Model* (BCNRM 2016), contendo bagaço de cana-de-açúcar, milho moído, casquinha de soja, caroço de algodão com línter, farelo de soja, ureia e mistura mineral (Tabela 1). A dieta 1 foi utilizada do primeiro dia do estudo até o dia da aplicação dos primeiros protocolos hormonais (85 dias), objetivando elevado GMD (~1.000 g/d) para atingir a meta de peso (aproximadamente 300 kg), suficiente para aplicar os protocolos hormonais. Após esse período e até o final do estudo (155 dias) foi fornecida a dieta 2, objetivando um moderado GMD (~600 g/d), para manutenção das novilhas.

Tabela 1 – Dietas experimentais

Variáveis	Dietas ¹	
	Período 1	Período 2
<i>Ingredientes (% MS)</i>		
Bagaço de Cana-de-açúcar	11,00	25,00
Caroço Algodão	9,00	0,00
Polpa Cítrica peletizada	29,00	38,00
Milho	29,55	30,00
Farelo de Soja	19,80	4,00
Ureia	0,45	1,80
Mineral	1,20	1,20
<i>Composição bromatológica² (%)</i>		
MS	78,15	71,71
PB	18,82	13,61
FDN	25,20	39,40
FDA	14,21	21,66
EE	3,96	2,16
MM	5,99	5,71
NDT ³	78,90	69,40

Legenda: ¹Dietas: Período 1: Fornecida para as novilhas antes da exposição aos protocolos hormonais, do dia 0 ao dia 84; Período 2: Fornecida para as novilhas após a exposição aos protocolos hormonais, do dia 85 ao dia 240.

²Variáveis em porcentagem da MS.

³Estimado pelo *Beef Cattle Nutrient Requirements Model 2016*.

Abreviações: MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra solúvel em detergente neutro; FDA: Fibra solúvel em detergente ácido; EE: Extrato etéreo; MM: Matéria mineral; NDT: Nutrientes digestíveis totais.

3.5.2 Análises bromatológicas

Mensalmente foram colhidas amostras da dieta e congeladas a -18°C para posteriores análises bromatológicas. As amostras foram compostas dentro de um mesmo período experimental e analisadas no LNRA -ESALQ -USP.

O teor de matéria seca (MS) da oferta e da sobra foi obtido após secagem das amostras em estufas de ventilação forçada a 55°C por 48 horas, e este valor foi utilizado para cálculo do CMS. As amostras congeladas foram descongeladas, e secas pelo mesmo processo para determinação da MS 1. As amostras foram processadas em moinho de faca com peneiras com crivos de 1 mm e secas em estufa a 105° C por 24 horas para determinação de MS 2, e incineradas em mufla a 550°C por 4 horas para determinação de matéria mineral (MM) (AOAC, 1997). Nitrogênio total foi determinado pelo método de Dumas. A proteína bruta (PB) foi calculada pela multiplicação do nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração de fibra em detergente neutro (FDN) ocorreu de acordo com metodologia proposta por Van Soest et al. (1991) e a fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com Goering e Van Soest (1970), e posteriormente foram corrigidos para cinzas.

3.6 MENSURAÇÕES CORPORAIS

3.6.1 Peso corporal (PC)

As novilhas foram pesadas ao início do estudo (dia 0), no dia de aplicação dos primeiros protocolos hormonais (dia 85), quando o primeiro CL foi identificado e no final do estudo (dia 240). Apenas as mensurações de PC nos dias 0 e 240 do estudo foram obtidas com as novilhas em jejum de 14 hr. Os PC que foram coletados em outros momentos durante o estudo foram ajustados para PC em jejum com a fórmula: $PC_{\text{jejum}} = PC_{\text{sem jejum}} * 0,96$.

3.6.2 Ultrassonografia de carcaça

A ultrassonografia de carcaça foi realizada no momento da aplicação dos protocolos de indução de ovulação (dia 85) e ao término do estudo (dia 240) para mensuração da Espessura de Gordura Subcutânea na Costela (EGSC) e Espessura de Gordura Subcutânea na Garupa (EGSG). A EGSC foi mensurada entre a 12^a e 13^a costela. A EGSG foi mensurada na região da garupa da novilha, sobre o músculo *Biceps femuris*.

As mensurações de EGSC e EGSG foram realizadas com aparelho de ultrassom HS-2000 (HONDA ELETRONICS CO. LTDA., Toyohashi, Japão) e probe

linear de 1,5 - 3 MHz (HONDA ELETRONICS CO. LTDA., Toyohashi, Japão) com auxílio de óleo vegetal aplicado sobre a região da garupa para proporcionar maior superfície de contato entre o transdutor e o corpo do animal.

3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As novilhas foram utilizadas como unidade experimental para análise das variáveis idade, PC, taxa de ovulação, volume do CL, diâmetro do FOLD, diâmetro uterino, EGSC e EGSG. Dessa forma, foram utilizadas 213 unidades experimentais (novilhas).

As baias foram utilizadas como unidades experimentais para análises de CMS, GMD e EA. O CMS foi calculado pela divisão do CMS da baia pelo número de novilhas na baia. O GMD da baia foi calculado pela média do GMD das novilhas na baia. Os valores médios de CMS e GMD da baia foram usados para calcular a EA. Dessa forma foram utilizadas 39 unidades experimentais (baias).

As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLIMMIX do software SAS®. O tratamento experimental foi considerado como efeito fixo e bloco como efeito aleatório. Análises secundárias foram realizadas para comparar novilhas ovuladas durante o estudo vs. novilhas não ovuladas; novilhas ciclando vs. não ciclando; e efeito da paternidade. Para essas análises desconsiderou-se o efeito de tratamento e apenas a comparação foi utilizada como efeito principal.

Durante a interpretação e discussão dos resultados foi adotado como efeito significativo quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $0,05 < P \leq 0,10$. Todos os dados contínuos foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk, homogeneidade das variâncias através do teste de Levene e retirada dos outliers com base no valor do r de student. O conjunto de dados que não respeitou alguma das premissas estatísticas foi submetido à transformações logarítmicas.

4 RESULTADOS

As novilhas iniciaram o estudo com $11,3 \pm 0,22$ meses de idade e PC médio de $205,61 \pm 4,24$ kg (Tabela 2). No primeiro período do estudo, o plano nutricional foi elevado para que as novilhas fossem expostas ao protocolos hormonais ao redor de 300 kg de PC. As novilhas pré-púberes foram induzidas à primeira ovulação quando

atingiram um PC médio de $299,76 \pm 5,86$ kg, com $14,1 \pm 0,22$ meses de idade, não havendo diferença desses parâmetros entre os tratamentos. Não houve perda de implante de P4 em nenhum dos protocolos aplicados.

Tabela 2 – Parâmetros de desempenho zootécnico de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais à base de progesterona, monitoradas dos 11 aos 19 meses de idade

Variáveis ²	Tratamentos ¹				EPM ³	Valor-P ⁴
	0P4	1P4	2P4	3P4		
n	55	52	52	54	-	-
<i>Período 1 (pré-protocolos)</i>						
Idade inicial (m)	11,3	11,4	11,3	11,3	0,22	0,95
Peso inicial (kg)	203,82	207,56	205,24	205,80	4,24	0,94
CMS (kg)	6,12	5,74	5,90	5,95	0,15	0,34
GMD (kg)	1,18	1,11	1,14	1,17	0,04	0,55
EA	0,19	0,19	0,19	0,20	0,00	0,92
<i>Parâmetros na aplicação do primeiro protocolo hormonal</i>						
Idade (m)	14,1	14,2	14,1	14,1	0,22	0,94
Peso (kg)	300,39	298,41	298,95	301,30	5,86	0,98
EGSC (mm)	5,17	5,11	5,37	5,48	0,12	0,15
EGSG (mm)	7,47a	6,79b	7,60a	7,57a	0,25	0,03
<i>Período 2 (pós-protocolos)</i>						
CMS (kg)	7,00	6,79	6,79	6,83	0,13	0,65
GMD (kg)	0,65	0,66	0,64	0,67	0,02	0,86
EA	0,09	0,10	0,09	0,10	0,00	0,32
EGSC final (mm)	8,41x	7,70y	7,91xy	8,09xy	0,20	0,09
EGSG final (mm)	12,09a	11,02b	11,62ab	11,06b	0,31	0,05
Peso final (kg)	404,74	404,86	401,97	408,72	8,73	0,96
Idade final (kg)	19,4	19,5	19,4	19,4	0,22	0,93
<i>Período total</i>						
CMS (kg)	6,70	6,43	6,49	6,53	0,13	0,51
GMD (kg)	0,83	0,81	0,81	0,83	0,02	0,87
EA	0,12	0,13	0,12	0,13	0,00	0,32

Legenda: ¹ Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

²Variáveis: CMS: Consumo de matéria seca diário; GMD: Ganho de peso médio diário; EA: eficiência alimentar; EGSC: Espessura de gordura subcutânea na costela; EGSG: Espessura de gordura subcutânea na garupa.

³EPM: Erro padrão da média.

⁴Significativo quando $\leq 0,05$.

a,b: indicam diferença estatística $p \leq 0,05$.

x,y: indicam tendência estatística $0,05 < p < 0,10$.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos nas variáveis PC, CMS, GMD e EA das novilhas no primeiro período, no segundo período ou no período total do estudo. No momento da aplicação dos primeiros protocolos hormonais, as novilhas do grupo 1P4 apresentaram menor EGSG (6,69 mm; $p = 0,03$) em comparação aos outros tratamentos (0P4 = 7,47 mm; 2P4 = 7,60 mm; 3P4 = 7,57 mm). No final do estudo as novilhas do grupo 0P4 apresentaram maior EGSG (12,09 mm; $p = 0,05$), que as novilhas 1P4 e 3P4 (11,02 mm e 11,06 mm), enquanto o grupo 2P4 não diferiu dos demais (11,62 mm). Além disso, houve tendência do grupo 0P4 apresentar maior EGSC (8,41 mm; $p = 0,09$) do que o tratamento 1P4 (7,70 mm), enquanto os grupos 2P4 e 3P4 apresentaram valores intermediários (7,91 mm e 8,09 mm). Ao término do estudo, as novilhas apresentaram PC médio $405,07 \pm 8,73$ kg com $19,42 \pm 0,22$ meses de idade.

A taxa de ovulação dos protocolos foi superior a 76%, independente do tratamento (Tabela 3). O protocolo de indução da primeira ovulação foi aplicado nos tratamentos 1P4, 2P4 e 3P4 e resultou em 78% de ovulação. Novilhas que ovularam espontaneamente ($n = 3$) antes de receber o protocolo de indução de ovulação não foram contabilizadas na taxa de ovulação ao protocolo. O primeiro protocolo de sincronização de ovulação resultou em 86% de ovulação e foi aplicado nos tratamentos 2P4 e 3P4. Apenas as novilhas do tratamento 3P4 receberam o segundo protocolo de sincronização de ovulação e apresentaram resposta de 76%.

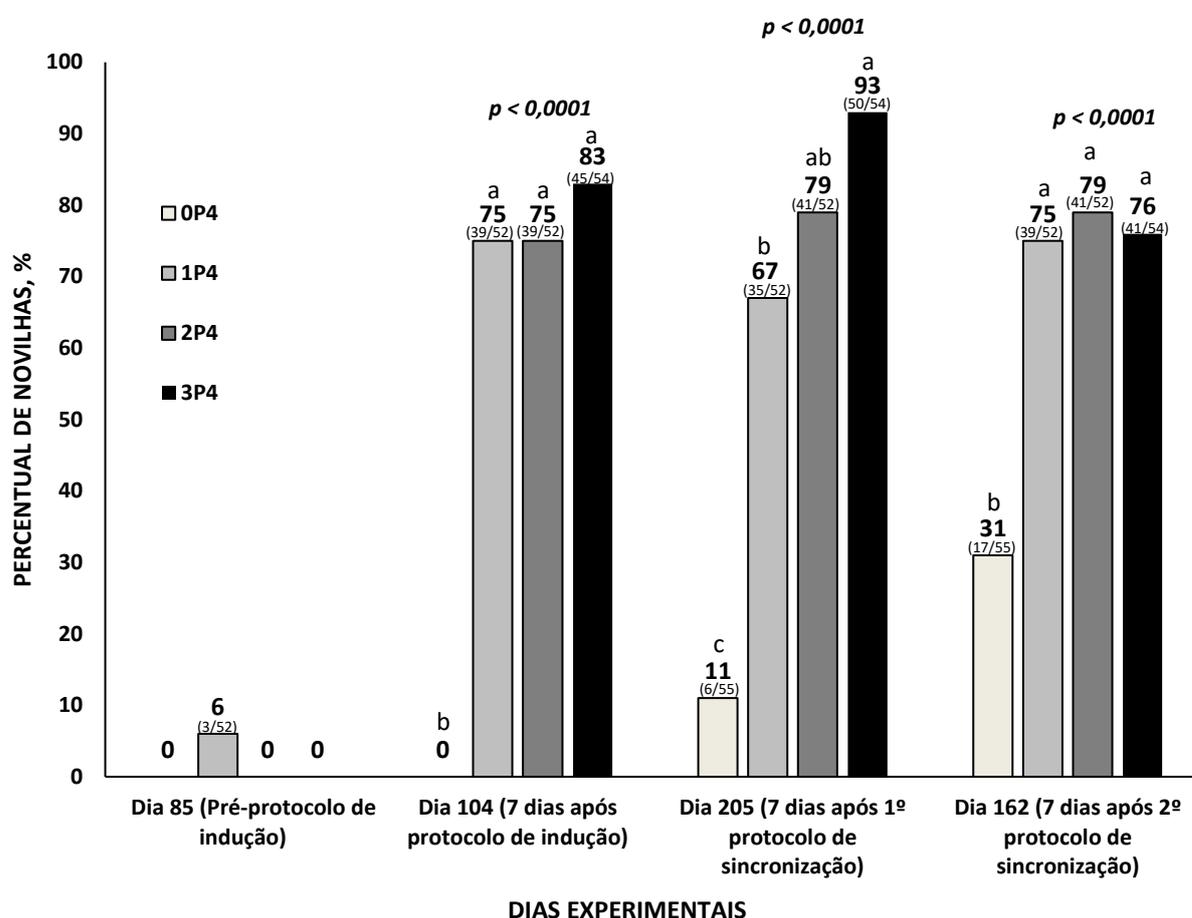
Tabela 3 - Taxa de ovulação de novilhas Nelore submetidas a protocolos hormonais para indução de ovulação à base de progesterona.

Variáveis	Protocolos hormonais ¹		
	Protocolo de indução de ovulação	1º protocolo de sincronização de ovulação	2º protocolo de sincronização de ovulação
Taxa de ovulação (% de novilhas com CL; n/n)	78% (124/159)	86% (92/107)	76% (41/54)

Legenda: ¹Protocolo de indução de primeira ovulação (aplicado nos grupos 1P4, 2P4 e 3P4): 12 dias de implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repto One®, Globalgen), com aplicação intramuscular (IM) de Cipionato de Estradiol (CE; 0,5 mg, Cipion®, Globalgen) na retirada do implante. 1º protocolo de sincronização de ovulação (aplicado nos grupos 2P4 e 3P4) e 2º protocolo de sincronização de ovulação (aplicado no grupo 3P4): 7 dias de implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repto One®, Globalgen) e aplicação IM de 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Syncrogen®, Globalgen) no dia da inserção do implante; aplicação IM de 0,5 mg de CE (Cipion®, Globalgen), 0,526 mg de Cloprostenol sódico (PGF2 α , Induscio®, Globalgen) e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, eCGen®, Globalgen) no dia da retirada do implante.

Na figura 6 está representado o percentual de novilhas com CL antes da aplicação do protocolo de indução de ovulação e na avaliação realizada sete dias após a retirada do implante de P4 em cada tratamento. Apenas 3 novilhas apresentaram CL antes da aplicação dos protocolos hormonais. Após o primeiro protocolo hormonal (protocolo de indução da primeira ovulação), as novilhas que receberam protocolos hormonais (1P4, 2P4 e 3P4) apresentaram proporção similar de CL (75%, 75% e 83%). Apenas o grupo 0P4 diferiu dos demais (0%, $p < 0,001$), sendo que nenhuma novilha apresentava CL nessa avaliação.

Figura 6 - Percentual de novilhas Nelore apresentando corpo lúteo antes e após a exposição a protocolos hormonais



Legenda: Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolo de sincronização de ovulação).

Significativo quando $\leq 0,05$.

a,b, c: indicam diferença estatística $p \leq 0,05$.

Após a aplicação do segundo protocolo hormonal (primeiro protocolo de sincronização de ovulação), houve diferença entre os tratamentos ($p < 0,001$), sendo que o grupo 0P4 apresentou menor percentagem de novilhas com CL (11%), sendo inferior aos demais. O grupo 3P4 apresentou um maior número de novilhas com CL (93%) em comparação aos tratamentos 1P4 (11%) e 0P4 (67%), mas não diferiu do tratamento 2P4 (79%). Além disso, os grupos 1P4 e 2P4 não diferiram entre si. Após o terceiro protocolo hormonal (segundo protocolo de sincronização de ovulação), apenas o grupo 0P4 apresentou um baixo percentual de novilhas ovuladas (31%; $p < 0,001$), comparado aos tratamentos 1P4, 2P4 e 3P4 (75%, 79% e 76%).

Houve efeito de tratamento na idade à primeira ovulação ($p < 0,0001$; Tabela 4), sendo que o grupo que não recebeu nenhum protocolo hormonal (0P4) apresentou maior idade no momento de identificação do primeiro CL (16,7 m), comparado aos grupos 1P4, 2P4 e 3P4 (14,9 m, 14,8 m e 14,8 m). Além disso, o tratamento 0P4 apresentou menor percentual (45%; $p < 0,0001$) de novilhas que ovularam pelo menos uma vez durante o estudo comparado aos grupos 1P4, 2P4 e 3P4 (90%, 96% e 100%).

Tabela 4 - Idade à primeira ovulação e taxa de ovulação total de novilhas Nelores expostas a protocolos hormonais aos 14 meses de idade

Variáveis	Tratamentos ¹				EPM ²	Valor-P ³
	0P4	1P4	2P4	3P4		
n	55	52	52	54	-	-
Idade na detecção do 1º CL (m)	16,7b	14,9a	14,8a	14,8a	0,23	<0,0001
<i>Percentual de novilhas que:</i>						
Ovularam pelo menos uma vez no estudo (%)	47b	88a	96a	100a	-	<0,0001
Retornaram ao anestro (% do total ovuladas)	12	37	32	37	-	0,28
Estavam ciclando no final do estudo (%)	42b	56ab	65a	63a		0,04

Legenda: ¹Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

²EPM: Erro padrão da média.

³Significativo quando $\leq 0,05$.

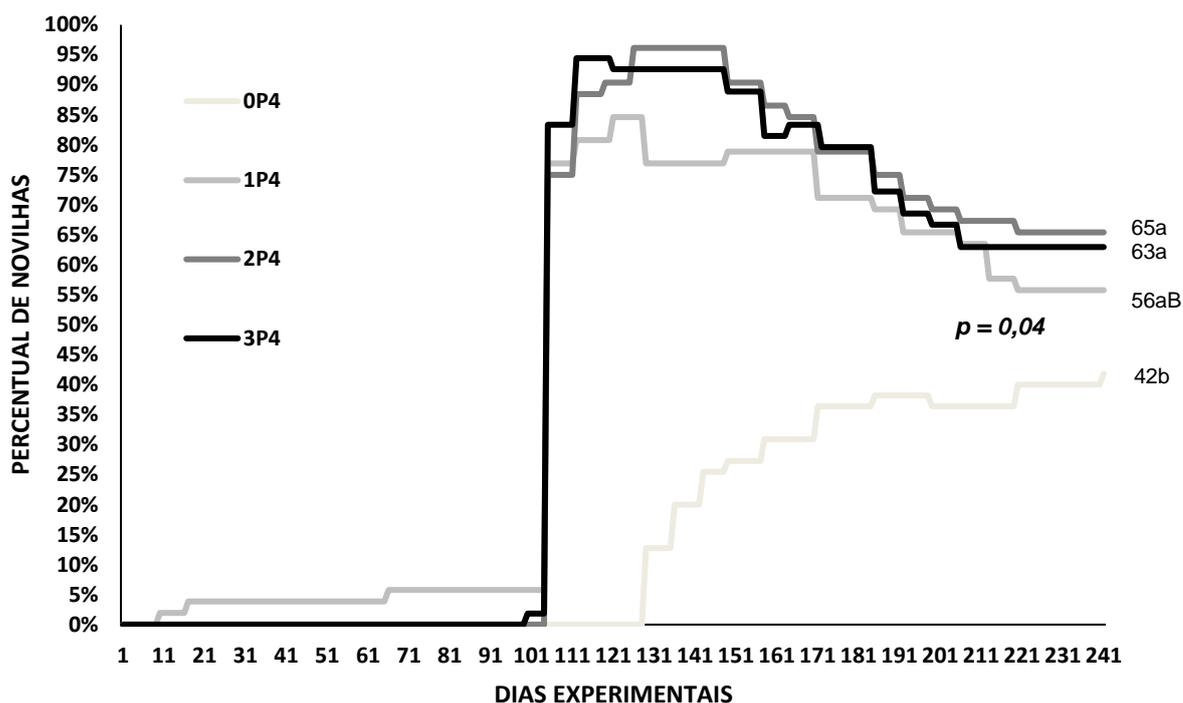
a,b: indicam diferença estatística $p \leq 0,05$.

Abreviações: CL: Corpo lúteo.

Foi observado uma variação entre o percentual de novilhas que ovularam e as que mantiveram a ciclicidade até o fim do estudo. Os tratamentos que receberam protocolo hormonal (1P4, 2P4 e 3P) apresentaram maior proporção de novilhas

ciclando ao final do estudo comparados ao tratamento 0P4 ($p = 0,04$). Independente da ovulação ter sido espontânea ou induzida, ocasionada por ação hormonal exógena, um percentual de novilhas retorna ao anestro. Na figura 7 está representada a curva de sobrevivência das novilhas que ovularam e permaneceram ciclando.

Figura 7 - Curva de sobrevivência das novilhas que ovularam e mantiveram a ciclicidade

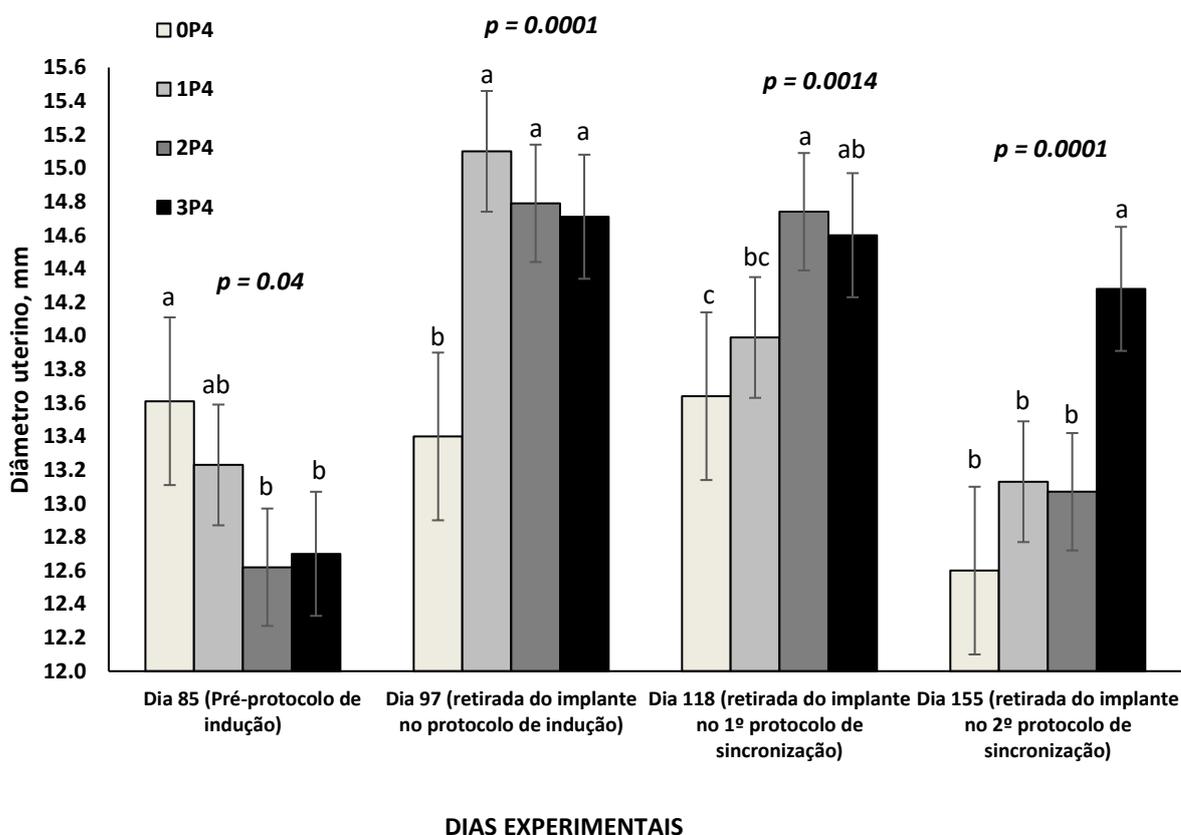


Legenda: Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

As novilhas do grupo 0P4 apresentavam diâmetro uterino maior (13,61 mm; $p = 0,04$) que das novilhas dos grupos 2P4 e 3P4 (12,62 mm e 12,70 mm) antes da aplicação dos protocolos, enquanto o grupo 1P4 não diferiu dos demais (13,23 mm; figura 8). Após a aplicação do primeiro protocolo (indução da primeira ovulação), os grupos 1P4, 2P4 e 3P4 apresentaram maior diâmetro uterino (15,10 mm, 14,79 mm e 14,71 mm; $p = 0,0001$), comparados ao grupo controle (13,40 mm). Após a aplicação do segundo protocolo hormonal (primeiro protocolo para sincronização de ovulação), houve diferença entre os tratamentos ($p = 0,0014$), sendo que os grupos que

receberam o segundo protocolo (2P4 e 3P4) não diferiram entre si (14,74 mm e 14,60 mm), mas ambos foram diferentes do grupo 0P4 (13,64 mm), que apresentou menor diâmetro uterino. Novilhas que receberam apenas um protocolo hormonal (1P4) apresentaram diâmetros uterinos intermediários (13,99 mm) e não foram diferentes dos grupos 3P4 e 0P4. Após o terceiro protocolo (segundo protocolo para sincronização de ovulação), apenas o grupo 3P4 apresentou maior diâmetro uterino maior que os outros tratamentos (14,28 mm; $p < 0,001$), que não diferiram entre si (0P4 = 12,60mm; 1P4 = 13,13 mm; 2P4 = 13,07 mm). Na média das avaliações, os três tratamentos que foram expostos a protocolos hormonais, por pelo menos uma ocasião, apresentaram maiores diâmetros uterinos do que o grupo controle ($p < 0,0001$).

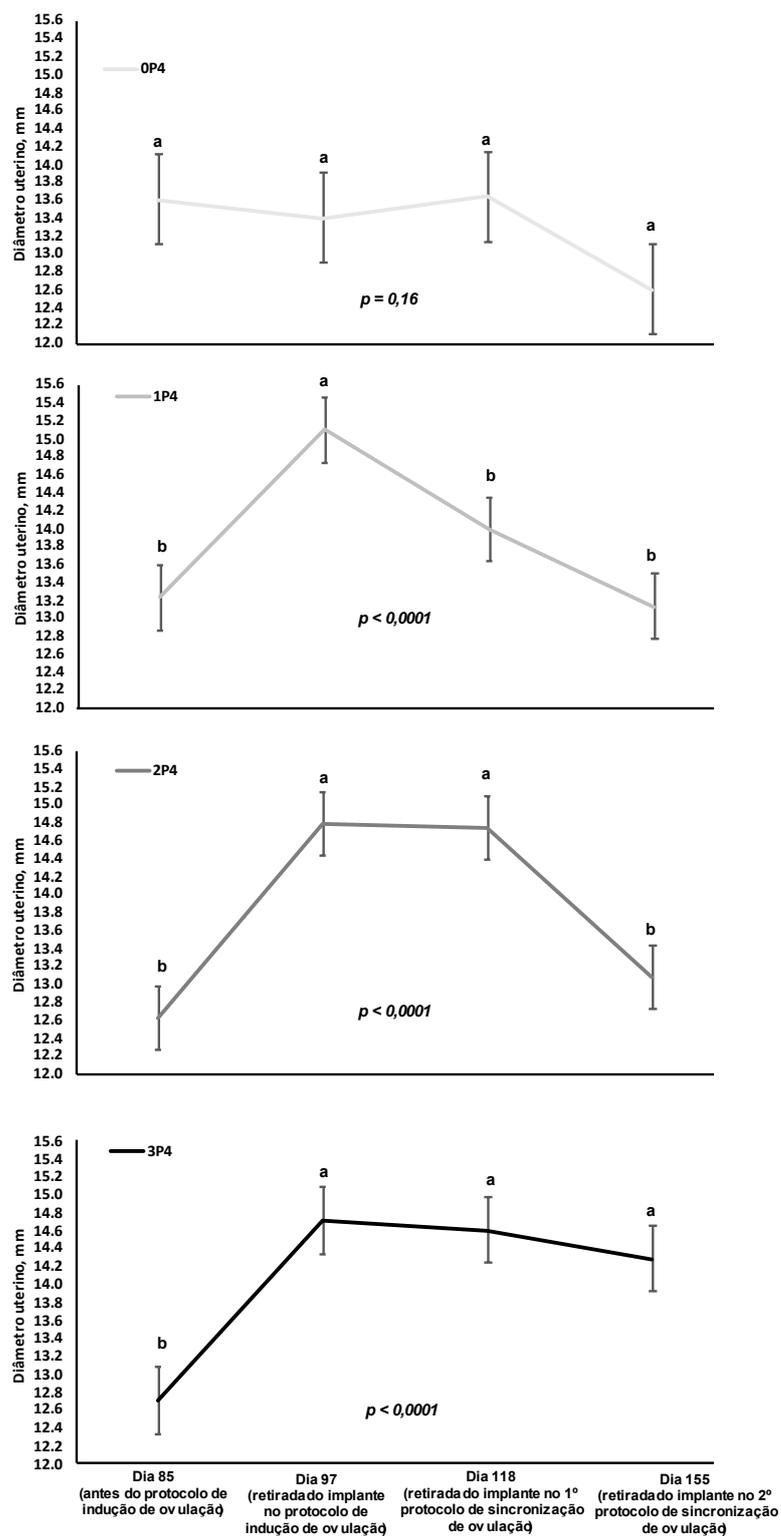
Figura 8 - Diâmetro uterino das novilhas Nelore antes da aplicação do protocolo de indução de ovulação e no momento da retirada no implante nos protocolos



Legenda: Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).
Significativo quando $\leq 0,05$.

Na análise do diâmetro uterino ao longo do estudo observou-se um efeito positivo no aumento do diâmetro uterino no momento da retirada do implante de progesterona para os tratamentos que receberam o implante de P4, conforme demonstrado na figura 9.

Figura 9 - Diâmetro uterino de novilhas Nelore durante o período experimental por tratamento



Legenda: Tratamentos: OP4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolo de sincronização de ovulação). Significativo quando $\leq 0,05$.

As novilhas foram avaliadas para a presença de CL semanalmente sendo que, para comparação do CL resultante da ovulação ao protocolo, foi considerado o volume do CL 7 dias após a retirada do implante de P4, nos grupos que receberam os protocolos. O volume do CL formado à partir da ovulação ao protocolo, não diferiu entre os tratamentos 1P4, 2P4 e 3P4 (2,41 cm³, 2,67 cm³ e 2,24 cm³), que receberam o protocolo de indução de ovulação (Tabela 5). O mesmo foi observado nos grupos 2P4 e 3P4 (2,34 cm³ e 2,92 cm³), para o volume do CL após o segundo protocolo hormonal (primeiro protocolo para sincronização de ovulação). Para os grupos que receberam mais de um protocolo hormonal, a análise intragrupo não identificou diferenças no volume do CL nos grupos 2P4 (2,67 cm³ vs. 2,34 cm³; p = 0,57) e 3P4 (2,24 cm³ vs. 2,92 cm³ vs. 1,25 cm³; p = 0,16), após a aplicação de cada protocolo hormonal.

Tabela 5 - Volume do corpo lúteo de novilhas Nelore de 14 meses de idade, mensurado sete dias após a aplicação de protocolos hormonais

Variáveis	Tratamentos ¹				EPM ²	Valor-P ³
	0P4	1P4	2P4	3P4		
n	55	52	52	54	-	-
<i>Volume do CL 7 dias após a retirada do implante (cm³)</i>						
Protocolo de indução	-	2,41 (n = 39)	2,67 (n = 39)	2,24 (n = 45)	0,37	0,63
1° Protocolo de sincronização	-	-	2,34 (n = 41)	2,92 (n = 50)	0,71	0,57
2° Protocolo de sincronização	-	-	-	1,25 (n = 41)	0,13	-
<i>Valor-P (intragrupo)⁴</i>	-	-	0,57	0,16	-	-

Legenda: ¹Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolo de sincronização de ovulação).

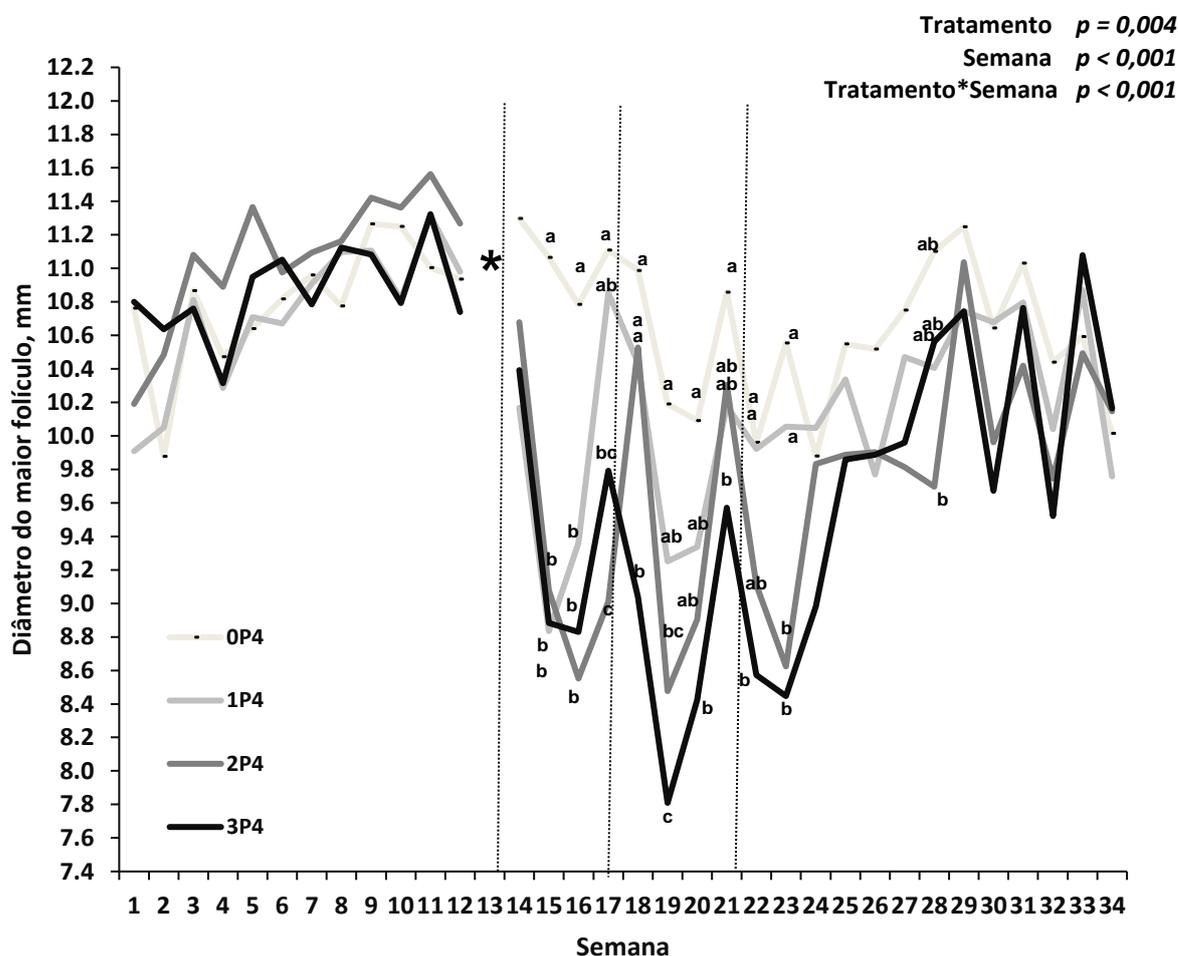
²EPM: Erro padrão da média.

³Significativo quando $\leq 0,05$ na análise intergrupo.

⁴ Significativo quando $\leq 0,05$ na análise intragrupo.

Semanalmente, foi mensurado o diâmetro do maior folículo ovariano, havendo efeito de tratamento (p=0,004), semana (p<0,001) e interação tratamento*semana (p<0,001) (figura 10). Considerando todo o estudo, o tratamento 0P4 apresentou folículos com maiores diâmetros (10,7 mm) do que os tratamentos 2P4 (10,2 mm) e 3P4 (10,0 mm) , enquanto o tratamento 1P4 apresentou tamanho intermediário (10,3 mm).

Figura 10 – Média do diâmetro do maior folículo de novilhas Nelore, mensurado na avaliação semanal de ultrassonografia



Legenda: Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

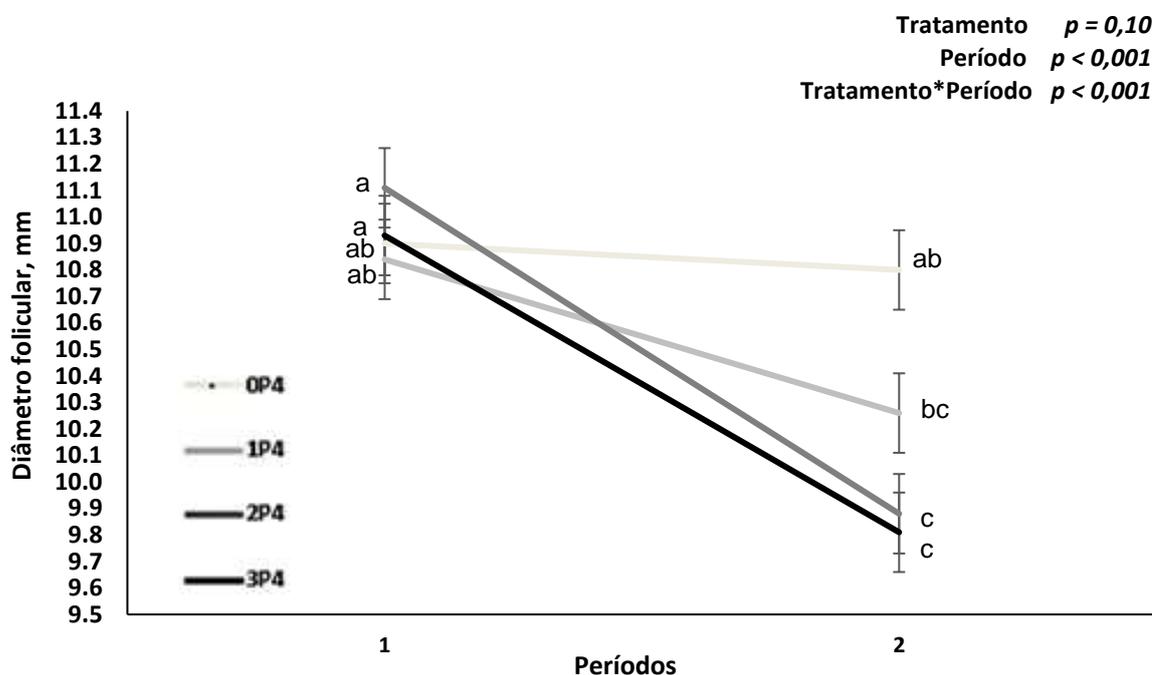
Asterisco (*) indica a única semana em que não foi mensurado o folículo pois as novilhas estavam com o implante intravaginal, devido ao protocolo de indução de ovulação de 12 dias.

Linha tracejada (-----) na vertical sinaliza a semana em que o implante intravaginal de cada protocolo hormonal foi removido.

Significativo quando $\leq 0,05$.

Na análise por período, foi observado uma tendência para efeito de tratamento ($p = 0,10$), efeito de período ($p < 0,0001$) e interação entre tratamento e período ($p < 0,0001$), conforme apresentado na figura 11.

Figura 11 – Média do diâmetro do maior folículo de novilhas Nelore em relação ao período experimental



Legenda: Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

Período 1 (antes da indução de ovulação): Dieta fornecida para as novilhas antes da exposição aos protocolos hormonais objetivando 1,0 kg/d de GMD, do dia 0 ao dia 84; Período 2 (depois da indução de ovulação): Dieta fornecida para as novilhas após a exposição aos protocolos hormonais objetivando 0,6 kg/d de GMD, do dia 85 ao dia 240.

Significativo quando $\leq 0,05$.

O diâmetro do maior folículo ovariano mensurado 2 dias após a retirada dos implantes de P4 foi avaliado após cada protocolo hormonal nos grupos que receberam os protocolos. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos que receberam o mesmo protocolo hormonal (Tabela 6). Houve diferença no diâmetro folicular em relação ao protocolo hormonal, sendo que no grupo 2P4, as novilhas apresentaram menores folículos após a segunda exposição a protocolos hormonais (14,16 mm vs. 9,22 mm; $p < 0,0001$). O mesmo resultado foi observado nas novilhas do tratamento 3P4, sendo que um maior número de exposições a protocolos de P4 resultou em menor diâmetro folicular (13,79 mm vs. 9,07 mm vs. 7,92 mm; $p < 0,0001$).

Tabela 6 - Diâmetro do maior folículo ovariano de novilhas Nelore mensurado dois dias após a remoção do implante de P4

Variáveis	Tratamentos ¹				EPM ²	Valor-P ³
	0P4	1P4	2P4	3P4		
n	55	52	52	54	-	-
<i>Diâmetro do maior folículo na retirada do implante de P4 (mm)</i>						
Protocolo de indução	-	14,13	14,16A	13,79A	0,42	0,62
1° Protocolo de sincronização	-	-	9,22B	9,07B	0,39	0,78
2° Protocolo de sincronização	-	-	-	7,92C	0,40	-
Valor-P (intragrupo) ⁴	-	-	<0,0001	<0,0001	-	-

Legenda: ¹ Tratamentos: 0P4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

²EPM: Erro padrão da média.

³Significativo quando $\leq 0,05$ na análise intergrupo.

⁴ Significativo quando $\leq 0,05$ na análise intragrupo.

A,B,C: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os protocolos dentro de um mesmo tratamento (análise intragrupo).

Foram feitas análises secundárias para comparar as variáveis entre as novilhas que ovularam com as novilhas que não ovularam durante o estudo (Tabela 7). Não houve diferença nas variáveis PC aos 11 meses, PC aos 14 meses, PC aos 19 meses e média do maior folículo ovariano. Houve tendência para maior GMD no período 1 para as novilhas que não ovularam no estudo (1,01 kg/d vs. 0,96 kg/d; $p = 0,08$). Também houve tendência para idade ao fim do estudo, em que as novilhas que ovularam durante o estudo eram mais velhas que as novilhas que não ovularam (19,44 m vs. 19,16 m; $p = 0,10$) As novilhas que ovularam durante o estudo apresentaram maior GMD no período 2 (0,75 kg/d; $p = 0,0009$) em comparação às novilhas que não ovularam (0,67 kg/d). As novilhas que ovularam durante o estudo também apresentaram maior diâmetro uterino (14,12 mm²; $p < 0,0001$) em comparação às novilhas que não ovularam (13,06 mm²).

Tabela 7 – Comparação de novilhas Nelore que ovularam com as novilhas que não ovularam durante o estudo

Variáveis	Ovulação		EPM ¹	Valor-P ²
	Sim	Não		
n	177	38	-	-
PC 11 meses, kg	205,38	201,69	3,93	0,35
GMD período 1, kg/d	0,96	1,01	0,03	0,08
PC 14 meses (indução), kg	311,40	313,78	5,78	0,68
GMD período 2, kg/d	0,75	0,67	0,02	0,0009
PC 19 meses (fim do estudo), kg	407,91	399,03	7,14	0,21
GMD total, kg/d	0,83	0,81	0,02	0,30
Idade ao fim do estudo, m	19,44	19,16	0,17	0,10
Média maior folículo, mm	10,33	10,44	0,84	0,90
Média diâmetro uterino, mm ²	14,21	13,06	0,20	<0,0001

¹EPM: Erro padrão da média.

²Significativo quando $\leq 0,05$.

Abreviações: PC: Peso corporal; GMD: Ganho de peso médio diário.

Foram feitas análises secundárias para comparar as variáveis entre as novilhas que ovularam e mantiveram a ciclicidade com as novilhas que não mantiveram a ciclicidade durante o estudo (Tabela 8). Não houve diferença nas variáveis GMD no período 1 e diâmetro uterino. Houve tendência para maior idade ao fim do estudo para as novilhas que mantiveram a ciclicidade (19,51 m vs. 19,25 m; $p = 0,10$) e para diâmetro folicular (10,44 mm vs. 10,18 mm; $p = 0,08$). As novilhas que ovularam durante o estudo apresentaram maior GMD no período 2 (0,77 kg/d vs. 0,71kg/d ; $p = 0,0014$) e no período total (0,86 kg/d vs. 0,80 kg/d; $p = 0,0012$) em comparação às novilhas que não ovularam. As novilhas que ovularam durante o estudo também apresentaram maior PC aos 11 (207,24 kg vs. 200,32 kg; $p = 0,05$), aos 14 (315,46 kg vs. 303,47 kg; $p = 0,02$) e aos 19 meses (415,51 kg vs. 394,41 kg; $p = 0,0012$).

Tabela 8 – Comparação de novilhas Nelore que mantiveram a ciclicidade com as novilhas que não mantiveram a ciclicidade durante o estudo

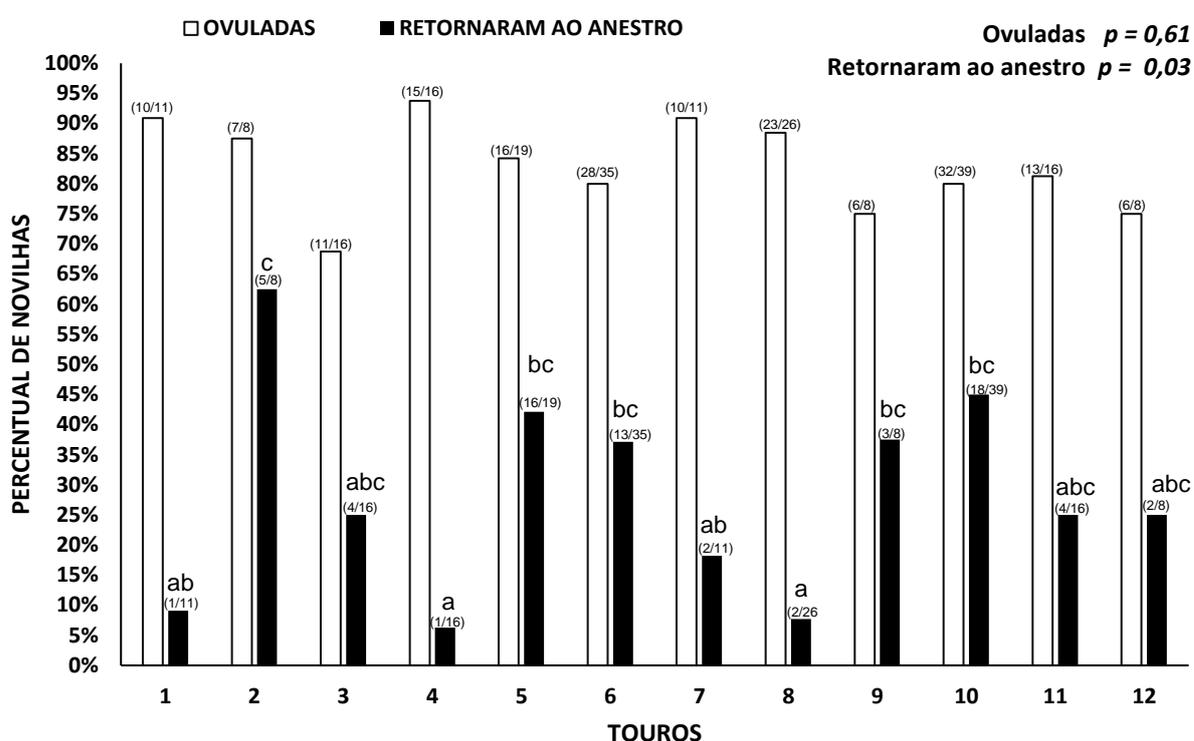
Variáveis	Ciclicidade		EPM ¹	Valor-P ²
	Sim	Não		
n	109	68	-	-
PC 11 meses, kg	207,24	200,32	3,51	0,05
GMD período 1, kg/d	0,98	0,93	0,03	0,11
PC 14 meses (indução), kg	315,46	303,47	5,17	0,02
GMD período 2, kg/d	0,77	0,71	0,02	0,0014
PC 19 meses (fim do estudo), kg	415,51	394,41	6,41	0,0012
GMD total, kg/d	0,86	0,80	0,02	0,0012
Idade ao fim do estudo, m	19,51	19,25	0,15	0,10
Média maior folículo, mm	10,44	10,18	0,15	0,08
Média diâmetro uterino, mm ²	14,24	14,16	0,19	0,67

¹EPM: Erro padrão da média. ²Significativo quando $\leq 0,05$.

Abreviações: PC: Peso corporal; GMD: Ganho de peso médio diário.

Foi feita uma análise independente do tratamento para entender a influência da paternidade das novilhas em relação à taxa de ovulação e manutenção da ciclicidade (figura 12). Não houve efeito no percentual de novilhas ovuladas em relação ao touro progenitor ($p = 0,61$). Entretanto, houve diferença no percentual de novilhas que não mantêm a ciclicidade em relação à sua paternidade ($p = 0,03$).

Figura 12 – Percentual de novilhas Nelore ovuladas e de novilhas que não mantiveram a ciclicidade em relação ao touro progenitor

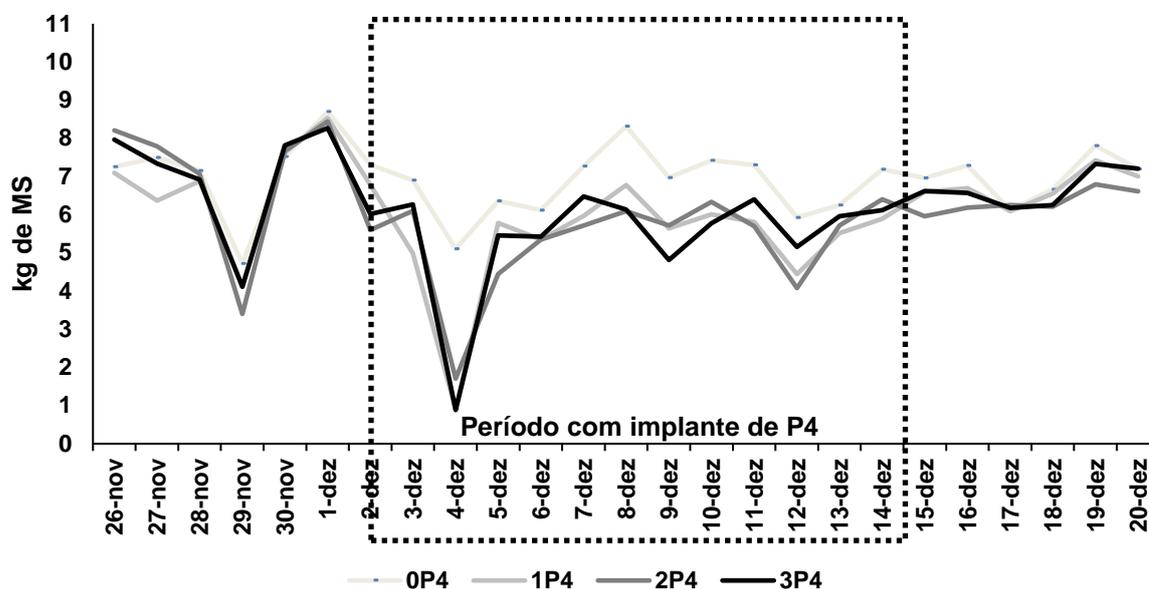


Legenda: Barras brancas representam o percentual de novilhas que ovularam pelo menos uma vez no estudo. Barras pretas representam o percentual de novilhas que não mantiveram a ciclicidade e retornaram ao anestro.

Números de 1 a 12: Cada número representa um touro progenitor.

As figuras abaixo sugerem que um volume menor de ração foi ofertado em decorrência da leitura de sobras de cocho quando as novilhas receberam os protocolos hormonais (figuras 13, 14 e 15). Como a oferta de ração foi baseada em leitura de cocho e não foram realizadas mensurações de sobras diariamente para determinação do CMS diário real, não se pode afirmar, mas os dados sugerem uma redução do CMS em decorrência da aplicação dos protocolos hormonais, através da curva de oferta de ração durante os dias de protocolo.

Figura 13 – Oferta de ração para novilhas Nelore antes, durante e após o 1º protocolo hormonal à base de progesterona (protocolo de indução de ovulação)

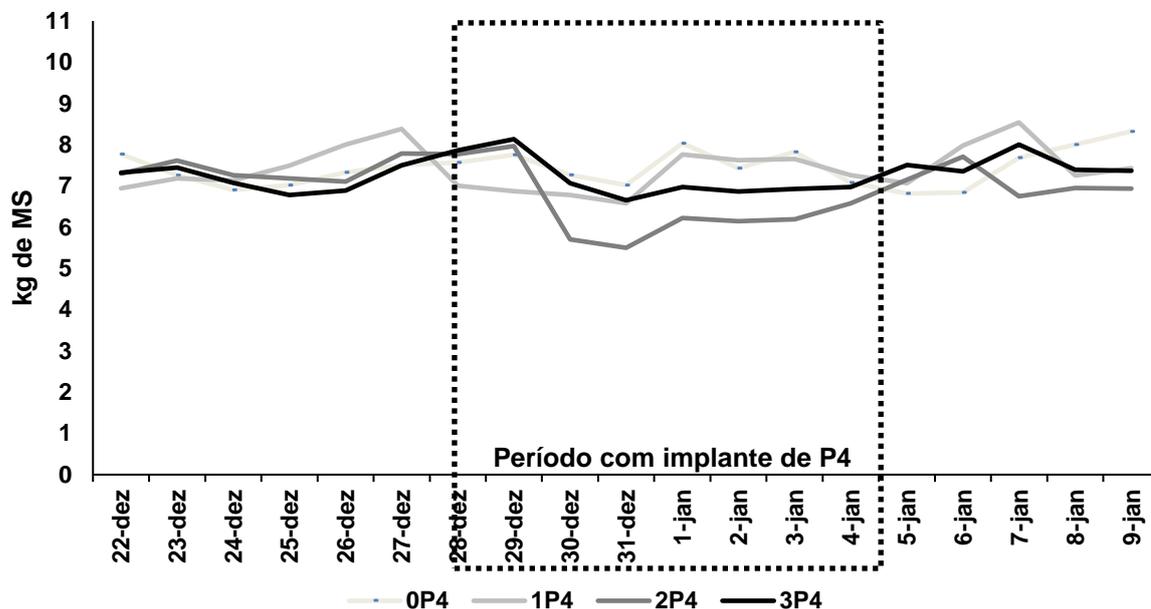


Legenda: Tratamentos: OP4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

Linha tracejada (-----) delimita o período em que as novilhas permaneceram com o implante de P4.

Abreviações: kg: quilograma; MS: matéria seca.

Figura 14 – Oferta de ração para novilhas Nelore antes, durante e após o 2º protocolo hormonal à base de progesterona (1º protocolo de sincronização de ovulação)

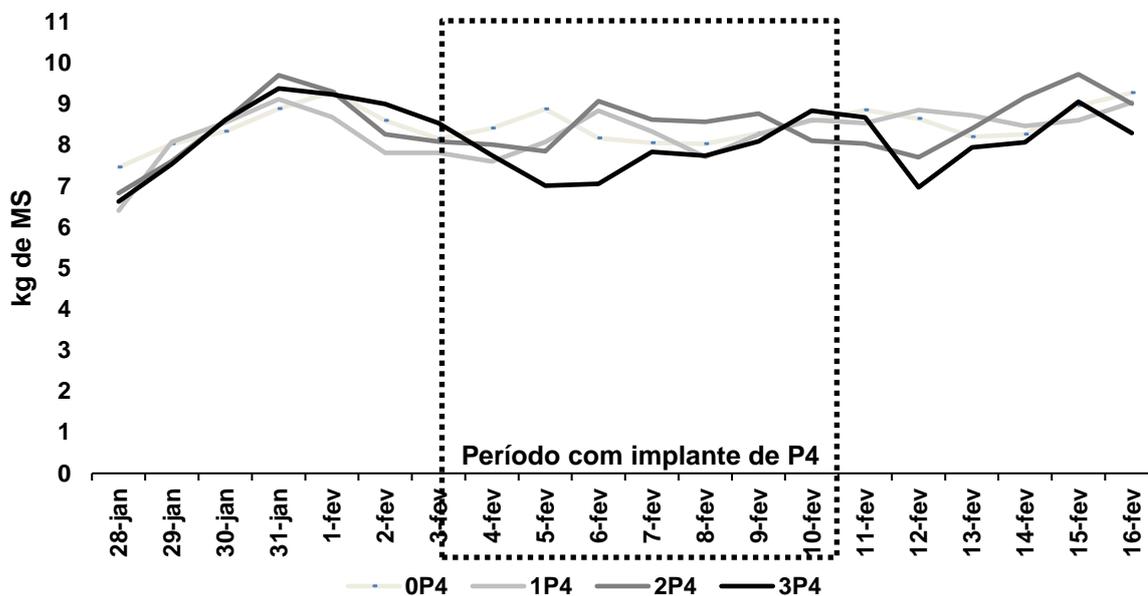


Legenda: Tratamentos: OP4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

tracejada (-----) delimita o período em que as novilhas permaneceram com o implante de P4.

Abreviações: kg: quilograma; MS: matéria seca.

Figura 15 – Oferta de ração para novilhas Nelore, durante e após o 3º protocolo hormonal à base de progesterona (2º protocolo de sincronização de ovulação)



Legenda: Tratamentos: OP4: Grupo controle sem exposição à protocolo hormonal; 1P4: Grupo exposto a 1 protocolo hormonal (protocolo de indução de ovulação); 2P4: Grupo exposto a 2 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e um protocolo de sincronização de ovulação); 3P4: Grupo exposto a 3 protocolos hormonais (protocolo de indução de ovulação e dois protocolos de sincronização de ovulação).

Protocolo de indução de ovulação: duração de 12 dias, com inserção do implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repro One®, Globalgen) no início do protocolo; retirada do implante de P4 com única aplicação IM de Cipionato de Estradiol (CE; 0,5 mg, Cipion®, Globalgen) no final do protocolo.

Protocolo de sincronização de ovulação: duração de 7 dias, com implante intravaginal de P4 de baixa concentração (0,5 g, Repro One®, Globalgen) e aplicação de 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Syncrogen®, Globalgen) IM no início do protocolo. Retirada do implante de P4 após 7 dias com aplicação de 0,5 mg de CE (Cipion®, Globalgen), 0,526 mg de Cloprostenol sódico (PGF2 α , Induscio®, Globalgen) e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, eCGen®, Globalgen) por via IM.

Linha tracejada (-----) delimita o período em que as novilhas permaneceram com o implante de P4.

Abreviações: kg: quilograma; MS: matéria seca.

5 DISCUSSÃO

Esse estudo é pioneiro na avaliação da manutenção da ciclicidade de novilhas Nelore pré-púberes, de 11 a 19 meses de idade, submetidas à protocolos hormonais a partir dos 14 meses de idade. Novilhas Nelore tendem a ser sexualmente um ano mais tardias do que raças taurinas (NOGUEIRA, 2004) e, aos 14 meses de idade, apresentam baixas taxas de puberdade (SÁ FILHO, 2008; FREITAS et al., 2021). Freitas et al. (2021) observaram em 650 novilhas Nelore de 14 meses de idade a presença de CL antes da exposição a protocolos hormonais variando de 2% a 15% em relação às três fazendas avaliadas. Entretanto, a taxa de puberdade espontânea (não induzida) de novilhas Nelore, aos 14 meses de idade, pode aumentar se houver seleção genética direcionada para precocidade sexual e regime alimentar adequado que atenda aos requerimentos nutricionais dessa categoria (NOGUEIRA, 2004, FERRAZ et al., 2018). No presente estudo, mesmo em elevado regime nutricional e elevada condição corporal, as novilhas apresentaram baixa taxa de ovulação antes da exposição aos protocolos com P4 (3 novilhas considerando todos os grupos experimentais), confirmando os dados que demonstram baixa taxa de puberdade precoce em novilhas Nelore (FERRAZ et al., 2018).

Protocolos hormonais à base de P4 e E2 tem sido utilizados como estratégia para induzir a primeira ovulação de novilhas pré-púberes antes da EM com o intuito de melhorar os resultados reprodutivos (RODRIGUES et al., 2013; MARTINS et al., 2021). No presente estudo, a utilização dos protocolos hormonais resultou em maior taxa de ovulação durante o estudo e maior número de novilhas ciclando ao término do estudo. Está bem documentado que esses protocolos aumentam o número de novilhas com CL antes da EM (MORIEL et al., 2017; LIMA et al., 2020), todavia, as novilhas que ovularam em decorrência desse protocolo são comumente avaliadas uma única vez antes de receberem um protocolo para IATF, e não se sabe se elas continuam a ciclar. Nesse estudo, foi observado que 35% das novilhas que receberam protocolo hormonal não mantiveram a ciclicidade após a primeira ovulação e retorna à condição anovulatória, confirmando nossa hipótese inicial. Se seguirmos a definição de puberdade, além da identificação de um CL, devemos considerar um CL ativo e um ciclo estral com duração normal (KINDER et al., 1987; MORAN; QUIRKE; ROCHE, 1989). Dessa forma, podemos questionar se as novilhas que não mantiveram

ciclicidade e retornam a uma condição anovulatória após o protocolo de indução de primeira ovulação se tornaram púberes.

A indução de ovulação de novilhas pré-púberes com protocolos à base de P4 resulta em supressão dos receptores de E2 no hipotálamo, reduzindo o *feedback* negativo do E2 e conseqüentemente aumentando a pulsatilidade de LH, culminando na primeira ovulação (ANDERSON; McDOWELL; DAY, 1996; DAY; ANDERSON, 1998). Além disso, Vrisman et al. (2018) demonstraram que novilhas Nelore apresentam maior proporção de CL com função luteal normal quando induzidas com P4, em comparação à indução de novilhas pré-púberes apenas com GnRH. Fisiologicamente, após a primeira ovulação, novilhas Nelore apresentam um primeiro ciclo estral curto, caracterizado por apresentar fase luteal reduzida e baixas concentrações de P4, enquanto os ciclos estrais consecutivos apresentam fase luteal normal e concentrações mais elevadas de P4 (NOGUEIRA, 2004). A ocorrência de mais de um ciclo estral antes da exposição da novilha à reprodução beneficia os resultados reprodutivos (BYERLEY et al., 1987; PERRY et al., 1991). Dessa forma, havendo maior número de exposições de P4 previamente à EM, há melhoria dos índices reprodutivos, evidenciado pela maior taxa de concepção de novilhas Nelore quando já havia um CL previamente à primeira exposição hormonal (ALVES, 2020).

Por outro lado, curiosamente, algumas novilhas que ovularam espontaneamente (grupo OP4) não mantiveram a ciclicidade. Nafziger et al. (2021) observaram diferentes padrões de ciclos estrais até que a ciclicidade fosse plenamente estabelecida em novilhas que ovularam espontaneamente, sem indução hormonal. Os autores identificaram, após a primeira ovulação, novilhas com ciclos estrais regulares, novilhas com ciclos estrais irregulares e novilhas que não estabeleciam ciclos e retornavam à condição anovulatória e, dessa forma, foram consideradas não púberes (NAFZIGER et al., 2021). A literatura mais antiga relata um fenômeno descrito como “estro não-puberal”, em que as novilhas expressam estro mas não há formação de um CL funcional, as concentrações são $P4 < 1,0$ ng/ml nos dias seguintes e o intervalo para o próximo estro pode ser superior a 60 dias (NELSEN et al., 1985; RUTTER; RANDEL et al., 1986).

Considerando que a puberdade induzida não é atingida apenas com a formação de um CL (KINDER et al., 1987), alguns outros fatores relacionados ao sistema endócrino-reprodutivo devem ser considerados como, por exemplo, o desenvolvimento uterino (KASIMANICKAM et al., 2020). Novilhas com maior escore

uterino (EUT) atingem a ciclicidade em menor tempo e, além disso, novilhas que foram expostas à protocolos com P4 apresentam menor tempo para estabelecer a ciclicidade (KASIMANICKAM et al., 2020). Corroborando esses dados, novilhas Nelore púberes apresentam maior EUT do que novilhas não púberes (MONTEIRO et al., 2013). Além disso, novilhas Nelore com maior EUT apresentam maior taxa de prenhez (CLARO JÚNIOR et al., 2010; MARTINS, et al., 2017). Em novilhas pré-púberes submetidas a protocolos hormonais com implante de P4, a queda abrupta nas concentrações de P4 após a retirada do implante faz com que ocorra uma elevação nas concentrações de E2, estimulando a proliferação e o crescimento de células endometriais, resultando no aumento do diâmetro uterino (MURRAY, 1992, JOHNSON; REDMER; REYNOLDS, 1997). Além disso, o controle da concentração endógena de P4 com PGF2 α , para novilhas com CL durante o protocolo, e a aplicação de eCG e ésteres de E2 contribuem de forma aditiva aos efeitos do E2 endógeno. Porém, foi observado no presente estudo que os grupos que receberam protocolos hormonais (1P4, 2P4 e 3P4) apresentaram maior diâmetro uterino apenas durante os protocolos hormonais. As novilhas que não foram expostas a nenhum tratamento hormonal mantiveram o mesmo diâmetro uterino durante todo o estudo, enquanto as novilhas dos tratamentos 1P4 e 2P4 apresentaram menor diâmetro uterino nos momentos em que não estavam recebendo protocolo hormonal. Dessa forma, o útero parece ser reativo aos hormônios exógenos mas não aumentando definitivamente seu diâmetro em função da aplicação de um protocolo hormonal. Além disso, as mensurações uterinas obtidas no presente estudo corroboram os dados de que novilhas Nelore apresentam menor diâmetro uterino do que novilhas taurinas (ANDERSON et al., 1991; MONTEIRO et al., 2013).

O diâmetro do maior folículo foi influenciado pela aplicação dos protocolos hormonais. Novilhas pré-púberes apresentam elevado crescimento folicular quando submetidas à dietas com maior teor de energia (GASSER et al., 2006). Porém, dependem da redução do *feedback* negativo de E2 para que ocorra a primeira ovulação, que pode ocorrer por ação de P4 exógena (ANDERSON; McDOWELL; DAY, 1996; DAY; ANDERSON, 1998). Durante o período 1, as novilhas de todos os tratamentos apresentavam o mesmo desenvolvimento folicular, entretanto, não tinham capacidade de ovular. A aplicação de protocolos hormonais resultou na redução do diâmetro folicular nos tratamentos 1P4, 2P4 e 3P4, devido à ovulação do maior folículo e surgimento de uma nova onda de crescimento folicular. Além disso, o

o tamanho do folículo é modulado pela ação da P4, tendo seu crescimento reduzido sobre elevadas concentrações de P4 (PFEIFER, et al., 2009). Os tratamentos que receberam protocolos hormonais apresentaram maior taxa de ovulação, resultando em menor crescimento folicular por ação da P4 produzida pelo CL (endógena). Para os grupos que receberam mais de um protocolo hormonal (2P4 e 3P4), as novilhas que iniciaram um protocolo com CL tem a concentração de P4 aumentada pela liberação de P4 do implante intravaginal (exógena), o que pode favorecer a redução do diâmetro folicular. O grupo que não recebeu nenhum protocolo hormonal não alterou o diâmetro folicular, mesmo que um percentual de novilhas começaram a ovular, isso não foi o suficiente para alterar a média do grupo. Além disso, o grupo OP4 demonstra que a diferença energética da dieta do período 1 para o período 2 não foi suficiente para influenciar no desenvolvimento folicular.

O plano nutricional do primeiro período do estudo foi proposto para que as novilhas atingissem o PC em que comumente é observado a puberdade em novilhas Nelore (DAY; NOGUEIRA, 2013). Além disso, novilhas mais pesadas tem melhor resposta ovulatória a protocolos hormonais (MARTINS et al., 2021), o que favoreceu a alta taxa de ovulação aos protocolos hormonais. As novilhas foram submetidas à elevado GMD fazendo com que acumulassem gordura subcutânea. Isso mostra que os protocolos hormonais são uma ferramenta muito potente, uma vez que o grupo controle (OP4), mesmo em elevada condição corporal (maior EGSG ao final do estudo), apresentou menor número de novilhas ovuladas e ciclando ao final do estudo comparado aos outros tratamentos que foram submetidos aos protocolos hormonais. Apesar de não observarmos diferenças entre os tratamentos em relação ao desempenho no período 1 e 2, quando desconsideramos os grupos experimentais, observamos que as novilhas que ovularam no estudo foram as que apresentaram maior GMD no período 2 e maior diâmetro uterino. Por outro lado, houve uma tendência dessas novilhas apresentarem menor GMD no período 1. Em relação à manutenção da ciclicidade, as novilhas que estabeleceram ciclicidade eram as mais pesadas aos 11, 14 e 19 meses de idade e apresentaram maior GMD no período 2 e maior GMD total. Além disso, essas novilhas apresentaram uma tendência de maior diâmetro folicular médio.

O efeito genético na idade à puberdade de novilhas é bem documentado (PERRY, 2016). Trabalhos mais recentes têm demonstrado efeito especificamente da paternidade sobre a puberdade de novilhas Nelore (NEPOMUCENO, 2013; FERRAZ

et al., 2018; MISZURA et al., 2021). Novilhas submetidas a elevado regime nutricional apresentam menor idade à puberdade quando são filhas de touros com características de precocidade sexual e, da mesma forma, novilhas em subnutrição são mais precoces se forem filhas de touros com mérito genético para precocidade sexual (FERRAZ et al., 2018; BARROSO et al., 2023). O efeito da paternidade na indução da primeira ovulação e manutenção da ciclicidade, entretanto, ainda não foi ainda avaliado. Os dados do presente trabalho mostram que a paternidade é um fator genético que afeta também a continuidade dos primeiros ciclos estrais após a primeira ovulação. Novilhas que atingem a puberdade espontaneamente (sem indução hormonal) apresentam diferentes taxas de puberdade em função da genética paterna, mesmo sobre o mesmo manejo nutricional (NEPOMUCENO, 2013; MISZURA et al., 2021). Independente do tratamento experimental, nossos dados mostraram que a taxa de ovulação de novilhas não é influenciada pelo efeito da paternidade. Todavia, um número considerável de novilhas não mantém a ciclicidade e retorna à condição anovulatória, havendo diferença na taxa de ciclicidade das novilhas em função dos touros progenitores. Os protocolos de indução de ovulação são bastante eficientes e devem ser usados para aumentar o número de novilhas com CL na EM. Todavia, ainda que as novilhas ovulem em função de um determinado protocolo hormonal, a genética pode influenciar a sua ciclicidade.

Como achado experimental, os dados gerados através dos gráficos de oferta de ração sugerem uma redução do consumo após a aplicação do protocolo hormonal. Estudos devem ser conduzidos nesse sentido para avaliar a influência do implante de P4 e demais fármacos sobre a redução do consumo das novilhas durante o protocolo, e os dados gerados podem auxiliar no desenvolvimento de protocolos hormonais e implantes de P4 que se adequem melhor à categoria animal.

6 CONCLUSÕES

Os protocolos hormonais para indução de primeira ovulação e sincronização de ovulação resultam em elevada resposta quando aplicados em novilhas Nelore a partir de 14 meses de idade. Porém, um percentual considerável de novilhas que ovula após um protocolo hormonal não mantém a ciclicidade e retorna à condição anovulatória. De toda forma, utilizar protocolos hormonais resultou em um maior percentual de novilhas ciclando ao final do estudo. As novilhas que não são induzidas começam a ovular mais tarde e apresentam menor percentual de ciclicidade em comparação às contemporâneas. O número de protocolos hormonais (1, 2 ou 3) não influenciou a taxa de ciclicidade, porém, novilhas que ovularam e mantiveram a ciclicidade ganharam mais PC, principalmente, após a aplicação dos protocolos hormonais.

A taxa de ovulação durante o estudo não foi influenciada em função da genética paterna (touro). Entretanto, o percentual de novilhas não manteve a ciclicidade e retornou à condição anovulatória foi influenciado pela genética paterna. Dessa forma, considerando apenas o fator genético, os protocolos hormonais podem alterar a taxa de ovulação, porém, não tem efeito sobre a manutenção de ciclicidade. Novos estudos devem ser conduzidos para entender a relação entre o número de protocolos hormonais e genética na manutenção da ciclicidade de novilhas Nelore induzidas com protocolos hormonais aos 14 meses idade.

REFERÊNCIAS

ABIEC. Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carne. Perfil da pecuária no Brasil. Beef Report. 49. 2020.

ALVES, R. L. O. R. Hormonal combinations for fixed-time artificial insemination aiming to optimize fertility outcomes of Nelore cattle. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2020.

AMSTALDEN M. et al. Neuroendocrine pathways mediating nutritional acceleration of puberty: insights from ruminant models. *Frontiers in Endocrinology*. Dez 27; 2:109, 2011.

ANDERSON, K. J. D., et al. “The Use of Reproductive Tract Scoring in Beef Heifers.” *Agri-Practice* 12:19–26, 1991.

ANDERSON L. H.; MCDOWELL C. M.; DAY M. L. Progesterin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biology of Reproduction*. Mai 1;54(5):1025-31. 1996.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists International Official Methods of Analysis. 16th Edition, AOAC, Arlington. 1997.

ARANA, D. G. Efeitos da somatotrofina recombinante bovina na puberdade de novilhas nelore. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araçatuba. 72p. 2015.

ARMSTRONG, J. D.; BENOIT, A. M. Paracrine, autocrine, and endocrine factors that mediate the influence of nutrition on reproduction in cattle and swine: an in vivo, IGF-I perspective. *Journal of Animal Science*, v.74, p.18-35, 1996.

AUSTIN, C. R.; SHORT, R. V. Reproduction in mammals. Great Britain. 2 edition. 234p. 1984.

AZEVEDO, D. M. M. R. R. et al. Reproductive performance of Nelore cows in the North and Northeast Regions of Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 35:988–996. 2006.

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

BARKER, D. J. et al. Growth in útero and sérum cholesterol concentrations in adult life. *British Medical Journal*, 307(6918):1524-1527. 1993.

BARROSO, J. P. R. et al. Estratégias genéticas e nutricionais aplicadas nas fases do desenvolvimento para antecipar a puberdade de novilhas de corte no Brasil. In: GOBESSO, a. A. O. et al. (Org.). *Novos desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal*. 1ed.: Editora 5D, v. 1, p. 1-428. 2020.

BARROSO, J. P. R. et al. Effect of sires' expected progeny difference for scrotal circumference and juvenile ADG on the puberty of crossbred beef heifers. *Tropical Animal Health and Production*, v. 55, n. 3, p. 230, 2023.

BARUSELLI, P.S. Com desaceleração de 5% em 2022, mercado da IATF registra primeiro recuo em 20 anos. *Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP*, 7a ed., 2023.

BCNRM. *Beef Cattle Nutrient Requirements Model*. 2016.

BERG, R. T.; WALTERS, L. E. The meat animal: Changes and challenges. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 57, p. 133-146, 1983.

BYERLEY, D. J. et al. Pregnancy Rates of Beef Heifers Bred Either on Puberal or Third Estrus. *Journal of Animal Science*. 65:645–650. 1987.

CARDOSO, R. C. et al. Use of a stair-step compensatory gain nutritional regimen to program the onset of puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 92(7), 2942-2949. 2014.

CARDOSO, R. C. et al. Nutritional control of puberty in the bovine female: prenatal and early postnatal regulation of the neuroendocrine system. *Domestic Animal Endocrinology*, 73, 106434. 2020.

CLARO JÚNIOR, I. et al. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology*. Out 1;74(6):903-11. 2010.

CICCIOLI, N. H. et al. Incidence of puberty in beef heifers fed high-or low-starch diets for different periods before breeding. *Journal of Animal Science*. Nov 1;83(11):2653-62. 2005.

COOKE, R.F.; ARTHINGTON, J. D. Plasma progesterone concentrations as puberty criteria for Brahman – crossbred heifers. *Livestock Science*; 123;101–5. 2008.

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. et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative *feedback* of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Biology of Reproduction*, v.37, p. 1054-1065, 1987.

DAY M. L.; Anderson L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. *Journal of Animal Science*. Jan 1;76(suppl_3):1-5. 1998.

DAY, M. L. et al. Fatores que afetam a idade na puberdade em novilhas de corte. In: PIRES, A. V. (Ed). *Bovinocultura de corte*. Piracicaba: Fealq,. P. 637-652, 2010.

DAY M. L.; NOGUEIRA, G. P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production, *Animal Frontiers*, Volume 3, Issue 4, October, Pages 6–11. 2013.

DAY M. L. Nutritional effects on beef heifer development, puberty and subsequent reproduction. In: Proc. 26th Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp., Gainesville, FL. Feb 2 (pp. 69-77). 2015.

DE LA GALLEGOS HOYA, M. P. et al. Role of Leptin in Cattle Production: Review. *Journal of Animal and Veterinary Advance*; 14 (4):81-90, 2015.

D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S.; CAMPANILE, G. Metabolic health, the metabolome and reproduction in female cattle: a review. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 858-867. 2019.

ELER, J. P. et al. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nelore heifers. *Journal of Animal Science*, v. 80, n. 4, p. 951-954, 2002.

ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; TEIXEIRA, L. A. Seleção para precocidade em novilhas de corte. In: Pires, A. V. (Ed). *Bovinocultura de corte*. FEALQ; 2010.

EVANS, J. L. et al. Additive genetic relationships between heifer pregnancy and scrotal circumference in Hereford cattle. *Journal of Animal Science*, v. 77, n. 10, p. 2621-2628, 1999.

FARIA, F. J. C. et al. Pedigree analysis in the Brazilian Zebu breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v. 126, n. 2, p. 148-153, 2009.

FELISBINO NETO, A. R. Estratégias para otimizar o protocolo de IATF em novilhas Nelore (*Bos indicus*). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2021.

FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P. Seleção de *bos indicus* para precocidade sexual. *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, v. 31, n.2, p. 167-171, 2007.

FERRAZ, J.B.; FELÍCIO, P. E. Production systems—An example from Brazil. *Meat Science*. Fev 1;84(2):238-43. 2010.

FERRAZ, M. V. C. et al. A combination of nutrition and genetics is able to reduce age at puberty in Nelore heifers to below 18 months. *Animal*, v. 12, n. 3, p. 569-574, 2018.

FREITAS, B. G. et al. Relationship of body maturation with response to estrus synchronization and fixed-time AI in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Livestock Science*, 251, 104632. 2021.

FORTUNE, J. E. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal Reproduction Science*, 78(3-4):135-163, 2003.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular micro environmet in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science*, v.82/83, p.109-126, 2004.

FOULADI-NASHTA, A. A.; CAMPBELL, K. H. S. Dissociation of oocyte nuclear and cytoplasmic maturation by the addition of insulin in cultured bovine antral follicles. *Reproduction*, v. 131, n. 3, p. 449-460, 2006.

FUNSTON, R. N. et al. Winter grazing system and supplementation of beef cows during late gestation influence heifer progeny. *Journal of Animal Science*, 88(12), 4094-4101, 2010.

GALINDEZ, J. P. A. Hormonal adjustments for fixed-time artificial insemination and physiologic variables in the reproductive performance of *Bos indicus* heifers. *Dissertação de Mestrado*. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2022.

GASSER, C. L. et al. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. *Journal of Animal Science*, 84(8), 2042-2049, 2006a.

GASSER, C. L. et al. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *Journal of Animal Science*, 84(11), 3118-3122, 2006b.

GASSER, C. L. et al. 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, 2006c.

GASSER, C. L. Joint Alpha-Beef Species Symposium: considerations on puberty in replacement beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 91, n. 3, p. 1336-1340, 2013.

GLENCROSS, R. G. A note on the concentrations of plasma oestradiol-17 β and progesterone around the time of puberty in heifers. *Animal Production*. 39:137–140. doi:10.1017/S0003356100027719, 1984.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). US Agricultural Research Service, 1970.

GONZALEZ-PADILLA, E.; NISWENDER, G. D.; WILTBANK, J. N. Puberty in beef heifers. II. Effect of injections of progesterone and estradiol-17 β on serum LH, FSH and ovarian activity. *Journal of Animal Science*, v. 40, n. 6, p. 1105-1109, 1975.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. *Fisiologia da reprodução*. 7^a. São Paulo, 2004.

HALL J. B. et al. Body composition and metabolic profiles associated with puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science*. Nov 1;73(11):3409-20. 1995.

HANLEY, B. et al. Metabolic imprinting, programming and epigenetics—a review of present priorities and future opportunities. *British Journal of Nutrition*, 104(S1), S1-S25, 2010.

HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, v. 157, n. 4, p. 1819-1829, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022.

IMWALLE, D. B.; PATTERSON, D. J.; SCHILLO, K. K. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. *Biology of Reproduction*, v. 58, n. 6, p. 1432-1436, 1998.

JOHNSTON, D. J. et al. 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, n. 1, p. 74-84, 2014.

JOHNSON, M. L.; REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P. Effects of Ovarian Steroids on Uterine Growth, Morphology, and Cell Proliferation in Ovariectomized, Steroid-Treated Ewes, *Biology of Reproduction*, Volume 57, Issue 3, 1 September, Pages 588–596, 1997.

KASIMANICKAM, R. K. et al. Cyclicity, estrus expression and pregnancy rates in beef heifers with different reproductive tract scores following progesterone supplementation. *Theriogenology*, 145, 39-47. 2020.

KINDER, J. E.; DAY, M. L.; KITTOCK, R. J. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *J Reprod Fertil Suppl*, v. 34, p. 167-186, 1987.

KOWALSKI, L. H. et al. Leptina e grelina na produção de ruminantes. *Revista de Ciências Agrárias*, 37(4), 375-383, 2014.

LALMAN, D. L. et al. The effects of ruminally undegradable protein, propionic acid, and monensin on puberty and pregnancy in beef heifers. *Journal of Animal Science*. Nov 1;71(11):2843-52. 1993.

LESMEISTER, J. L.; BURFENING, P. J.; BLACKWELL, R. L. Date of first calving in beef cows and subsequent calf production. *Journal of Animal Science*, v. 36, n. 1, p. 1-6, 1973.

LIMA, R. S. et al. Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI. *Theriogenology*, 154, 128-134. 2020.

LOUHIO, H. et al. The effects of insulin, and insulin-like growth factors I and II on human ovarian follicles in long-term culture. *Molecular Human Reproduction*, 6(8), 694-698. 2000.

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.

MACNEIL, M. D. et al. Genetics correlations among sex-limited traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 58, p.1171-1180, 1984.

MADGWICK, S.; EVANS, A. C.; BEARD, A. P. Treating heifers with GnRH from 4 to 8 weeks of age advanced growth and the age at puberty. *Theriogenology*. Mai 1;63(8):2323-33. 2005.

MARTIN, L. C. et al. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *Journal of Animal Science*, v. 70, n. 12, p. 4006-4017, 1992.

MARTINS C. M. et al. Factors that affect pregnancy rate to TAI and to natural breeding of 14 months old Nelore heifers . Abstract. *Animal Reproduction*, 14. 2017.

MARTINS, T. et al. Puberty attainment and reproductive performance of yearling *Bos indicus*-influenced heifers after two sequential treatments with progesterone. *Animal Reproduction Science*, 231, 106803. 2021.

MC PARLAND, S. et al. Inbreeding effects on milk production, calving performance, fertility, and conformation in Irish Holstein-Friesians. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 9, p. 4411-4419, 2007.

MEDINA, C. L. et al. Glucose availability modulates the timing of the luteinizing hormone surge in the ewe. *Journal of Neuroendocrinology*, 10(10), 785-792, 1998.

MISZURA, A. A. et al. Implications of growth rates and compensatory growth on puberty attainment in Nelore heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, 74, 106526, 2021.

MONTEIRO, F. M. et al. Reproductive tract development and puberty in two lines of Nelore heifers selected for postweaning weight. *Theriogenology*, 80(1), 10-17. 2013.

MORAN, C.; QUIRKE, J. F.; ROCHE, J.F. Puberty in heifers: a review. *Animal Reproduction Science*. Feb 1;18(1-3):167-82. 1989.

MORIEL, P. et al. Effects of calf weaning age and subsequent management system on growth and reproductive performance of beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 92, n. 7, p. 3096-3107, 2014.

MORIEL, P. et al. Effects of post-weaning growth rate and puberty induction protocol on reproductive performance of *Bos indicus*-influenced beef heifers. *Journal of Animal Science*, 95(8), 3523-3531. 2017.

MURRAY, M. K. The effect of estrogen and progesterone on structural changes in the uterine glandular epithelium of the ovariectomized sheep. *Biol Reprod*. Sep;47(3):408-17. 1992.

NAFZIGER, S. R. et al. Attainment and maintenance of pubertal cyclicity may predict reproductive longevity in beef heifers. *Biology of Reproduction*, 104(6), 1360-1372. 2021.

NELSEN, T. C. et al. Nonpuberal estrus and mature cow influences on growth and puberty in heifers. *Journal of Animal Science*, 61(2), 470-473. 1985.

NEPOMUCENO, D. D. Efeito do manejo nutricional sobre a maturação do eixo reprodutivo somatotrófico no início da puberdade de novilhas Nelore. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 2013.

NEPOMUCENO, D. D. et al. Effect of pre-partum dam supplementation, *creep-feeding* and post-weaning feedlot on age at puberty in Nelore heifers. *Livestock Science*, 195, 58-62, 2017.

NETO, A. R. F. et al. Progesterona injetável pode ser utilizada para indução de ciclicidade em novilhas da raça nelore. In: Anais da XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Foz do Iguaçu, 2016.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in south american *bos indicus* (Zebu) cattle. *Animal Reproduction Science*. Jul 1; 82:361-72, 2004.

NRC, Nutrition Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 7ed ed. National Academy Press, Washington, D.C. 1996.

NUNEZ-DOMINGUEZ, R. et al. Lifetime production of beef heifers calving first at two vs three years of age. *Journal of Animal Science*, v. 69, n. 9, p. 3467-3479, 1991.

PATERNO, F. M. Análise genética de escores visuais e sua relação com características reprodutivas de animais da raça Nelore. 2015. 88 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. 2015.

PEREIRA, E.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Correlação genética entre perímetro escrotal e algumas características reprodutivas na raça Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 6, p. 1676–1683, 2001.

PEREIRA, G. R. et al. Relationship of post-weaning growth and age at puberty in crossbred beef heifers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 46, n. 5, p. 413-420, 2017.

PERES, R. F. G. Avaliação retrospectiva de dados reprodutivos e zootécnicos de fêmeas Nelore com prenhez aos 14 meses. In.: *Palestras e dados nacionais 2019. Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos*, 2019.

PERRY, G. A. Physiology and endocrinology symposium: Harnessing basic knowledge of factors controlling puberty to improve synchronization of estrus and fertility in heifers. *Journal of Animal Science*. Abril 1;90(4):1172-82. 2012.

PERRY, G. A. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. *Theriogenology*, 86(1), 373-378. 2016.

PERRY, R. C. et al. Effects of hay quality, breed, and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. *Journal of production agriculture*, 4(1), 13-18. 1991.

PFEIFER, L. F. et al. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology*. Nov 1;72(8):1054-64. 2009.

PIMENTEL, C.; CARDELINO, R.; OLIVEIRA, J. A. Peso corporal de novilhas de corte, como referência para o acasalamento. *Anais da XVIII Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia (SBZ)*, 1981.

RASBY, R. J. et al. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. *Theriogenology*. Julho 1;50(1):55-63. 1998.

RAWLINGS, N. C. et al. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Animal reproduction science*, 78(3-4), 259-270. 2003.

RHIND, S. M.; RAE, M. T.; BROOKS, A. N. Effects of nutrition and environmental factors on the fetal programming of the reproductive axis. *Reproduction*. 122: 205–214, 2001.

RODRIGUES, A. D. et al. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. Janeiro 1;79(1):135-41. 2013.

RUTTER, L. M.; RANDEL, R. D. Nonpuberal estrus in beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 63, n. 4, p. 1049-1053, 1986.

SÁ FILHO, M. et al. IATF em novilha. In: *Biotechnologia da reprodução em bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)*. p. 54–67. 2008.

SANGSRITAVONG, S. et al. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. Nov 1;85(11):2831-42. 2002.

SANTANA JUNIOR, M. L. et al. Two trait random regression model to estimate the genetic association of scrotal circumference with female reproductive performance in Nelore cattle. *Theriogenology*, v. 83, n. 9, p. 1534-1540, 2015.

SANTOS, J. E. P.; SÁ FILHO, M. *Nutrição e reprodução em bovinos*. *Biotechnologias da Reprodução em Bovinos*, v. 2, p. 30-54, 2006.

SANTOS, J. A. et al. Efficiency of the protocol of cyclicity induction with injectable progesterone in prepubertal 2-year-old Nelore (*Bos indicus*) Heifers. Abstracts. In: *Proceedings of the 33rd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE)*; Ilha de Comandatuba, BA, Brasil, 2019.

SHIMIZU, T. et al. Involvement of insulin and growth hormone (GH) during follicular 76 development in the bovine ovary. *Animal Reproduction Science*, v. 106, p. 143- 152, 2008.

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.

SOUZA, E. M. et al. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. *Revista Sociedade Brasileira Zootecnia*, v. 24, p. 926-935, 1995.

VAN SOEST, P. J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Acute reduction in serum progesterone concentration safter feed intake in dairy cows. *Theriogenology*, Philadelphia, PA, v. 60, n. 5, p. 795-807, Sep. 2003.

VAZ, R. Z. et al. Desempenho de novilhas de corte até o parto recebendo diferentes níveis de suplementação durante o período reprodutivo, aos 14 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(3), 797-806, 2012.

VRISMAN, D. P. et al. Corpus luteum dynamics after ovulation induction with or without previous exposure to progesterone in prepubertal Nellore heifers. *Theriogenology*, 106, 60-68. 2018.

WATERLAND, R. A.; GARZA, C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(2), 179-197, 1999.

WEEKLEY, K. A.; MARSHALL, T. T.; HARGROVE, D. D. Effects of nutritional environment on percentage of mature weight at which crossbred heifers of varying proportion of Brahman breeding attain puberty. *Annual Florida Beef Cattle Short Course*, v. 42, p. 54-59, 1993.

WILLIAMS, G. L. et al. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, v.23, p. 339-349, 2002.

WILTBANK, J. N. et al.. Reproductive Performance and Profitability of Heifers Fed to Weigh 272 or 318 kg at the Start of The First Breeding Season. *Journal of Animal Science* 60:25–34. 1985.

YELICH, J. V. et al. Effects of growth rate, carcass composition and lipid partitioning at puberty and growth hormone, Insulin-like Growth Factor I, insulin, and metabolites before puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.73, p.2390-24-05, 1995.