

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**LEONNI DASCANI ZINI MOREIRA**

**INDUÇÃO DA PUBERDADE EM NOVILHAS DA RAÇA NELORE  
COM PROGESTERONA VEICULADA EM MATRIZ POLIMÉRICA**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
2013**

**LEONNI DASCANI ZINI MOREIRA**

**INDUÇÃO DA PUBERDADE EM NOVILHAS DA RAÇA NELORE  
COM PROGESTERONA VEICULADA EM MATRIZ POLIMÉRICA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Orientador: Prof. Reginaldo da Silva Fontes**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
2013**

**LEONNI DASCANI ZINI MOREIRA**

**INDUÇÃO DA PUBERDADE EM NOVILHAS DA RAÇA NELORE  
COM PROGESTERONA VEICULADA EM MATRIZ POLIMÉRICA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Aprovada em 26 de fevereiro de 2013**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Prof.<sup>a</sup> Kelen Salaroli Viana (Doutora, Ciência Animal) – UFRJ**

---

**Prof.<sup>a</sup> Célia Raquel Quirino (Doutora, Ciência Animal) – UENF**

---

**Prof. Ângelo José Burla Dias (Doutor, Biociências e Biotecnologia) – UENF**

---

**Prof. Reginaldo da Silva Fontes (Doutor, Ciências Veterinárias) – UENF  
(Orientador)**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho **à minha filha Isabela**, que foi um presente de Deus em minha vida, e que me fez mudar como ser humano, trazendo a maturidade e fazendo pensar que hoje existe uma pessoa no mundo que depende de mim.

Não poderia deixar de dedicar aos meus Pais, **Fernando Zini e Marluce Dascani** que sempre estiveram presentes, e me dando forças para seguir este caminho em horas que pensava desistir.

Minha **Vó Jandira**, uma pessoa que admiro muito e por quem tenho especial carinho, quem me criou e quem vai estar sempre em meu coração.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, por tudo, por ter permitido finalizar este trabalho depois de momentos difíceis e acontecimentos. Se hoje estou presente com vida, foi graças ao bom Deus que permitiu.

Agradeço ao meu grande amigo e orientador Professor Reginaldo da Silva Fontes, por ter acreditado em meu trabalho, pela oportunidade de trabalharmos juntos durante todos esses anos que veem desde a graduação, com seus conselhos de vida que me fizeram crescer como pessoa e ter participação no que sou hoje.

A empresa PecGen Embriões, pela oportunidade de realizar o estudo durante os trabalhos diários, em especial a todos os funcionários que trabalharam junto comigo durante todo este tempo: Marcelo Rosado, Márcia Sabino, Kelen Salaroli, Filipe Faber e Bruno Pena.

A todos os funcionários da Fazenda Abadia, onde o trabalho foi realizado, em especial ao meu grande amigo Willy Pedro, meu muito obrigado!

A todos os funcionários da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro que direta ou indiretamente estiveram relacionados com o trabalho e me ajudaram a finalizá-lo.

Aos Professores Angelo Burla e Luis Matos que sempre estiveram presentes nos ensinamentos e nas dúvidas que sempre surgiram.

À grande amiga Dra. Luciana Lemos, pela força e conselhos, sempre dando apoio para seguir em frente neste desafio.

À professora Célia Quirino, pela força na complicada estatística, Tio Laurismar e Roger Cardoso no inglês, à Tia Fabiene na correção ortográfica. Sem a ajuda de vocês, nada teria acontecido.

Aos meus irmãos Hector Narvaez e Maurício Mogollón pela solidariedade de sempre.

Não posso deixar de agradecer a Nina Quintanilha e família, sem a ajuda de vocês, tenho certeza que não teria finalizado este trabalho.

A todos aqueles que de alguma forma me ajudaram, **MUITO OBRIGADO!!!**

## RESUMO

MOREIRA, Leonni Dascani Zini, M.S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro de 2013. Influência do pré-tratamento com progesterona na indução da puberdade em novilhas zebuínas. Professor orientador: Reginaldo da Silva Fontes

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência de uma matriz polimérica à base de progesterona (Polisincro LA<sup>®</sup>) em induzir a puberdade de novilhas da raça Nelore. Foram selecionadas 84 novilhas com idade variando entre 18 e 24 meses, mantidas à pasto e com fornecimento de água e suplementação mineral *ad libitum*. Os animais foram distribuídos em três tratamentos: Trat.1 – 5 ml da matriz polimérica à base de progesterona (Polisincro LA<sup>®</sup>) por via subcutânea em dose única, Trat.2 – 5 ml da matriz polimérica à base de progesterona (Polisincro LA<sup>®</sup>) por via subcutânea + 1 mg de benzoato de estradiol por via intramuscular em dose única Trat.3 – controle (solução fisiológica-PBS, por via subcutânea em dose única). A eficiência na liberação de progesterona pela matriz polimérica foi analisada e comprovada por coletas de sangue nos dias 0, 1, 8, 16 e 24, considerando dia zero, o dia da aplicação do Polisincro LA. O efeito da matriz polimérica à base de progesterona foi determinado pelo diâmetro do corno uterino no início e no final do tratamento, assim como, a taxa de ovulação no final do tratamento com progesterona e a taxa de prenhez dos animais, após, houve a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $P>0,05$ ) em relação ao diâmetro do corno uterino. Contudo, a taxa de ovulação dos animais apresentou diferença significativa ( $P<0,05$ ), comparando antes e depois do tratamento com progesterona, porém, não foi observado diferença na presença de corpo lúteo entre os tratamentos Trat.1, Trat.2 e controle (63, 43 e 38% respectivamente). A taxa de prenhez após IATF, entre os tratamentos também não apresentou diferença significativa ( $P>0,05$ ), concluindo que, na dosagem utilizada, a matriz polimérica de progesterona (Polisincro LA<sup>®</sup>) não promoveu a indução da puberdade em novilhas. Novos estudos devem ser realizados para observar os resultados com concentrações menores de progesterona na matriz polimérica.

Palavras-chave: Progesterona, Puberdade, Prenhez, Polímero biodegradável.

## ABSTRACT

MOREIRA, Leonni Dascani Zini, M.S., State University of North Fluminense Darcy Ribeiro, February 2013. Influence of pre-treatment with progesterone in heifers zebu. Advisor teacher: Reginaldo da Silva Fontes

The present study has the aim to evaluate the efficiency of a polymeric matrix with progesterone (Polisincro<sup>®</sup>) to induce puberty in heifers prepubertal Nelore. Eighty four heifers were selected with the age ranging between 18 and 24 months, pasture management conditions and the supply water ad libitum and mineral supplementation. The animals were randomized into three groups: Treat.1 - 5 ml of the polymeric matrix with progesterone (Polisincro<sup>®</sup>), Treat.2 - 5 ml of the polymeric matrix with progesterone (Polisincro<sup>®</sup>) + 1 mg of estradiol benzoate and Treat.3 - control. The efficiency on release of progesterone by the polymeric matrix was analyzed and confirmed by blood collections D0, D1, D8, D16 and D24. The effect of the polymeric matrix with progesterone was determined by the uterine horn diameter at the beginning and end of the pretreatment. Such as, the ovulation rate at the end of pre-treatment with progesterone and pregnancy rate of the animals after completion of the fixed-time artificial insemination protocol (FTAI). It was observed that no significant difference between treatments ( $P > 0.05$ ) in relation to the diameter of the horn uterus. However, the ovulation rate of the animals showed a significant difference ( $P < 0.05$ ) comparing before and after pretreatment with progesterone. However, it doesn't differing statistically the presence of corpus luteum between treatments 63, 43 and 38%, respectively Treat.1, Treat.2 and control. The pregnancy rate after FTAI, between treatments also showed no significant difference ( $P > 0.05$ ), concluding that the polymeric matrix of progesterone (Polisincro<sup>®</sup>) did not show the expected result in the induction of puberty in prepubertal heifers. Further studies should be performed with lower concentrations of progesterone in the polymeric Matrix.

Keywords: Progesterone, Puberty, Pregnancy, biodegradable polymer.

# SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1) INTRODUÇÃO.....  | 9  |
| 2) OBJETIVO.....  | 11 |
| 3) REVISÃO DE LITERATURA.....   | 12 |
| 3.1. Puberdade em animais zebuínos.....                               | 12 |
| 3.2. Precocidade sexual e sua importância na produção de bovinos..... | 13 |
| 3.3. Fisiologia hormonal da puberdade em bovinos.....                 | 14 |
| 3.4. Fatores que interferem na puberdade.....                         | 17 |
| 3.4.1. Idade.....   | 17 |
| 3.4.2. Peso e nutrição.....   | 18 |
| 3.4.3. Fatores genéticos.....   | 20 |
| 3.5. Antecipação da puberdade em bovinos.....                         | 21 |
| 3.5.1. Indução hormonal da puberdade.....                             | 21 |
| 3.6. Sincronização do estro e da ovulação.....                        | 23 |
| 3.7. Polímeros.....   | 25 |
| 4) MATERIAIS E MÉTODOS.....   | 28 |
| 5) RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 34 |
| 6) CONCLUSÃO.....   | 40 |
| 7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                    | 41 |



## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 043/2013

Moreira, Leoni Dascani Zini

Indução da puberdade em novilhas da raça nelore com progesterona veiculada em matriz polimérica / Leoni Dascani Zini Moreira. – 2013.

54 f. : il.

Orientador: Reginaldo da Silva Fontes.

Dissertação (Mestrado - Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

Bibliografia: f. 41 – 54.

1. Progesterona 2. Puberdade 3. Prenhez 4. Polímero biodegradável I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 636.2082

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo graças ao enorme rebanho de corte, cerca de 205 milhões de cabeças (IBGE, 2011). Para atender a demanda de um mercado altamente competitivo, a introdução de novas tecnologias e os programas de melhoramento genético na pecuária de corte têm sido essenciais.

Tradicionalmente, o melhoramento genético tem devotado especial atenção ao desenvolvimento ponderal, porém, a atenção tem sido voltada também para as características reprodutivas, especialmente em *Bos indicus*. Isto se deve aos baixos índices relacionados com a manifestação tardia da puberdade, a elevada idade ao primeiro parto e ao prolongado período de anestro pós parto.

Entretanto, a precocidade sexual de fêmeas bovinas avaliadas por meio da idade à puberdade constitui-se um dos parâmetros mais confiáveis quando se deseja mensurar e elevar a eficiência reprodutiva do rebanho. Para a criação sustentável e lucrativa de bovinos é necessária a compreensão dos mecanismos fisiológicos relacionados à reprodução animal associados às práticas de manejo que aumentam a produção.

O uso da inseminação artificial (IA) teve grande impacto na constituição genética do rebanho bovino em todo o mundo, tornando possível a multiplicação de material genético superior em condições adversas de manejo e ambiente. Porém, a baixa eficiência na detecção de cio nessa espécie constitui-se um fator limitante para a utilização desta biotécnica. Assim, uma das alternativas para superar o problema, principalmente em zebuínos, cujo comportamento estral apresenta particularidades, é desenvolver formas de tratamentos que sincronizem o crescimento folicular e a ovulação, possibilitando a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sem a necessidade de detecção de estro (PINHEIRO *et al.*, 1998).

Há alguns anos, vários estudos da fisiologia reprodutiva possibilitaram a sincronização do ciclo estral através da aplicação de fármacos e que possibilitou a IATF, elevando a taxa de serviço para 100%, visto que todos os animais eram serão inseminados. Contudo, a adoção desses protocolos de

sincronização em novilhas *Bos indicus* tem demonstrado baixas taxas de ovulação, inviabilizando a utilização desses protocolos (BARUSELLI *et al.*, 2001).

A indústria farmacêutica tem conseguido grandes avanços com matrizes poliméricas biocompatíveis, biodegradáveis e termo-sensíveis, capazes de encapsular e fazer liberação controlada de medicamentos. Sendo assim, com uso de matrizes poliméricas, pode-se possibilitar a constituição de dispositivos apropriados para a veiculação de medicamentos, sendo ainda uma alternativa para reduzir custos na indústria pecuária devido à redução no manejo com os animais para retirada de implantes como é utilizado atualmente.

Sabendo dos efeitos benéficos dos progestágenos ou da progesterona (P4) em induzir a ciclicidade em fêmeas bovinas (RHODES *et al.*, 2002), vários estudos vêm sendo realizados em novilhas da raça Nelore, buscando antecipar a puberdade desses animais pela indução através do aumento da secreção de hormônio luteinizante (LH) causado pela exposição à progesterona (HALL *et al.*, 1997). Com isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta de novilhas Nelore expostas à matriz polimérica de progesterona e sua relação na antecipação da puberdade e taxa de prenhez.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

- Avaliar se a progesterona veiculada em matriz polimérica (Polisincro LA<sup>®</sup>) foi eficiente em induzir a puberdade em novilhas da raça Nelore.

### 2.2. Objetivos específicos

- Determinar a concentração sérica de progesterona liberada pela matriz polimérica nos animais tratados.
- Avaliar o diâmetro do corno uterino e do folículo dominante no início e no final do tratamento com progesterona.
- Avaliar o efeito do tratamento com a progesterona na taxa de ovulação e prenhez dos animais após IATF.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Puberdade em animais zebuínos

O Brasil conta com um rebanho de aproximadamente 205 milhões de cabeças, sendo 80% desse rebanho constituído de animais zebuínos ou cruzados com zebu. A grande importância das raças zebuínas para pecuária nacional vem das suas características de rusticidade e adaptação ao sistema de criação extensiva (NOGUEIRA, 2004).

Dos zebuínos criados no Brasil, a raça Nelore apresenta-se em maior quantidade (85% do rebanho zebuíno total). Os primeiros exemplares da raça chegaram ao Brasil no final do século XVIII vindo da Índia e, rapidamente, se tornaram a raça de gado predominante no rebanho brasileiro. A raça Nelore tem como características a elevada capacidade de digestão de fibras de baixa qualidade, resistência natural aos parasitas externos e metabolismo mais baixo que o gado europeu. Portanto, o Nelore se adaptou bem às condições de criação extensiva nos trópicos (ACNB, 2006).

Contudo, as raças zebuínas ainda apresentam uma característica de puberdade tardia, devido a falhas no processo de seleção. Com isso, os criadores têm lançado desafios para as novilhas Nelore com idade média de 14 meses, considerando posteriormente como novilhas prenhe, os animais que conceberem e permanecerem prenhe até o diagnóstico de gestação (FERRAZ & ELER, 2007).

Portanto, os animais devem ser analisados e selecionados com possibilidades de parir aos dois anos de idade com plenas condições de concepção na estação de monta subsequente (FERRAZ & ELER, 2007).

### 3.2. Precocidade sexual e sua importância na pecuária bovina

O sucesso na eficiência de produção de carne bovina no Brasil está diretamente relacionado com a antecipação da idade ao primeiro parto, buscando sempre uma maior lucratividade no sistema de produção. Com este aumento na eficiência reprodutiva do gado de corte é possível melhorar a produção e a oferta de proteína de origem animal (BELTRAN, 2007).

Portanto, em países desenvolvidos a produção de gado de corte emprega um manejo seletivo onde as novilhas têm o primeiro parto aos dois anos de idade (WOLFE *et al.*, 1990), demonstrando assim que as novilhas com precocidade sexual apresentam uma maior vida reprodutiva do que as tardias. Com isso, novilhas que apresentam primeiro parto próximo aos 24 meses de idade atingem a sua produtividade máxima (PATTERSON *et al.*, 1992).

Segundo Macneil *et al.* (1984) a herdabilidade da idade à puberdade é relativamente alta (0,61), permitindo a seleção através deste fenótipo. No entanto, do ponto de vista prático, no sistema de criação extensiva há dificuldades em se caracterizar a primeira ovulação para ser utilizada como uma ferramenta para o melhoramento genético, existindo ineficiência na coleta dos dados reprodutivos e não permitindo o estabelecimento confiável do mérito genético dos animais para tais características.

A identificação da primeira ovulação nas fêmeas envolve a palpação retal, avaliações com ultrassonografia ou quantificação da progesterona circulante, o que muitas vezes impossibilita sua aplicação na rotina de propriedades rurais (BELTRAN, 2007). Mesmo assumindo estas dificuldades a utilização de touros identificados como portadores de alto mérito genético para a precocidade sexual, permitiria aos criadores uma redução na idade à puberdade em seus plantéis, com conseqüente diminuição na idade ao primeiro parto (FERRAZ & ELER, 2007).

Em busca de confirmar os benefícios atribuídos à seleção para precocidade sexual nos zebuínos, aspectos relacionados com a capacidade de permanência no rebanho e concepção pós-parto estão sendo estudados, pois a reprodução aos 14 meses de idade não requer grande aumento de

investimento em alimentação e pode ser a melhor alternativa para melhorar o sistema de produção com baixo custo (FERRAZ & ELER, 2007).

Diversos estudos concluíram que existem diferenças entre idade e peso corporal à puberdade entre as várias raças de zebuínos. Em geral, o atraso no início da puberdade em zebuínos se reflete na idade à primeira cria, que nesses animais podem ocorrer aos 40 meses de idade (NOGUEIRA, 2004). Com isso, a idade à puberdade é uma das características indicadoras da precocidade sexual dos bovinos, passando a ser muito importante nos programas de melhoramento genético dos zebus (MACKINNON *et al.*, 1990; MEYER *et al.*, 1990; BERGMANN *et al.*; 1996).

### 3.3. Fisiologia da puberdade em bovinos

Entende-se por início da puberdade, o momento em que após o primeiro estro, ocorre o desenvolvimento de um corpo lúteo capaz de se manter presente durante o ciclo estral normal da espécie (KINDER *et al.*, 1987). Alguns pesquisadores definem a entrada na puberdade quando há presença de concentração plasmática de progesterona superior a 1 ng/ml (GONÇALVES *et al.*, 2000).

Do ponto de vista prático, um animal atinge a puberdade quando é capaz de liberar gametas e de manifestar todas as etapas envolvidas no comportamento sexual (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Aparentemente, nos bovinos, o mecanismo responsável pela contenção gonadal envolve inibição hipotalâmica, exercida pelos esteróides gonadais e inibição ou excitação central exercida por aminoácidos, peptídeos, monoaminas e gases difusíveis, conhecido como mecanismo de ação central (HORVATH *et al.*, 2001).

Após o nascimento, o desenvolvimento do sistema reprodutivo da novilha acontece em duas etapas: há um aumento no crescimento de todo o trato reprodutivo entre 3 e 4 meses de idade, seguido de uma fase em que o crescimento diminui e antecede uma nova fase de aceleração antes da primeira ovulação (DESJARDINS; HAFS, 1969). Desta forma, após o quinto

mês, a gonada secreta estradiol, inibe a secreção de gonadotrofinas, evento este que diminui progressivamente com o acontecimento da maturação sexual.

O início da secreção de gonadotrofinas não está bem esclarecido. Há dois padrões de secreção de gonadotrofinas: um tônico e outro cíclico (REITER; GRUMBACH, 1982). O padrão tônico ou basal é regulado por um mecanismo de retroalimentação negativa. Mudanças na concentração circulante de esteróides sexuais resultam em recíprocas mudanças na secreção das gonadotrofinas. O padrão de secreção cíclico envolve, além da retroalimentação negativa, um mecanismo de retroalimentação positiva. Em determinada fase do ciclo, o aumento da concentração circulante de estrógenos é responsável pela liberação pulsátil de LH e FSH.

No começo da puberdade, uma onda de GnRH promove a liberação de um pico de LH da hipófise anterior, a qual estimula a ovulação de um folículo pré-ovulatório. Assim, o eixo reprodutivo hipotalâmico-hipofisário-gonadal atua como um sistema regulador da reprodução, sendo o hipotálamo o componente final para regular o início da puberdade em novilhas (NAKADA et al., 2002).

De acordo com Day et al. (1984), a ovariectomia de novilhas pré-púberes aumentou a frequência e amplitude dos picos de secreção de LH. Quando fêmeas ovariectomizadas receberam uma administração parenteral de E2 (estradiol), a frequência pulsátil de LH foi suprimida. O tratamento crônico com doses exógenas de E2, no início do período pré-púbere, pode contribuir para desensibilizar o hipotálamo e levar à puberdade precoce (SCHOPPEE et al., 1995). A sensibilidade ao E2 é maior no período pré-púbere (KINDER et al., 1987), podendo ser controlada por neurônios localizados na área pré-óptica medial do hipotálamo (DOCKE et al., 1984), sensibilidade esta que pode ser controlada expondo os neurônios ao E2.

Com isso, o mecanismo pelo qual os progestágenos induziriam a puberdade seria pela diminuição nos receptores de estradiol no hipotálamo, amenizando ações da retro alimentação negativa do estradiol na secreção de GnRH, possibilitando assim aumento na secreção de LH, induzindo a ovulação e conseqüentemente à puberdade (DAY et al., 1998).

Desta forma, o mais consistente evento endócrino observado antes da puberdade, assim como no anestro pós-parto, é a baixa frequência dos picos



de LH (DAY et al., 1987). Com isso, para o desencadeamento da puberdade, é necessário um fator endócrino primário, isto é, a gradativa redução da sensibilidade do hipotálamo aos efeitos inibitórios do estradiol, desencadeando o aumento da frequência dos pulsos de LH (RAWLINGS *et al.*, 2003).

Nos bovinos, após o nascimento, a presença de opióides endógenos pode inibir a secreção de LH (HONARAMOOZ et al., 2000), ação esta que diminui antes da primeira ovulação (WOLFE et al., 1992). Podemos destacar alguns neurotransmissores capazes de estimular, como os aminoácidos excitatórios (glutamato, aspartato, neuropeptídeo Y, noraepinefrina, noradrenalina e ácido aspártico), e alguns neurotransmissores inibitórios, como o GABA, dopamina, opióides endógenos e endorfinas. Interações entre os sistemas adrenérgico, opioidérgico e serotoninérgico têm sido demonstradas em bovinos (CHANDOLIA et al., 1997; HONARAMOOZ et al., 2000).

A diminuição progressiva do efeito inibitório dos opióides ajusta o período em que ocorrerá a primeira ovulação. O efeito supressor dos opióides parece acontecer em parte através da inibição do sistema neuronal dopaminérgico, ou pela inibição generalizada dos neurônios secretores de GnRH a outros estímulos excitatórios (HONARAMOOZ *et al.*, 2000).

Paralelamente, o sistema nervoso central se torna mais responsivo a neuro-hormônios estimulatórios, como a norepinefrina. Para conter esta onda de estímulos, o sistema opioidérgico assume o bloqueio até que ocorra a primeira ovulação (WOLFE *et al.*, 1991).

De acordo com Nogueira e Oliveira (2004), a inibição central exercida pelo GABA pode estar presente em novilhas da raça Nelore durante o período de maturação sexual, assim como, a dopamina exerceu efeito inibitório sobre a secreção de LH durante o período pré-puberal em novilhas da raça Nelore (OLIVEIRA et al., 2005).

Nas últimas décadas, as buscas para compreender os mecanismos de interação entre o sistema neural e endócrino, trouxeram significativos progressos. Embora a visão conceitual referente à puberdade em fêmeas bovinas seja relativamente simples, os mecanismos endócrinos envolvidos no processo de transformações graduais que culminarão na maturidade sexual são complexos (SCHILLO *et al.*, 1992).

### 3.4. Fatores que interferem na puberdade

#### 3.4.1. Idade

Um dos principais fatores envolvidos no início da puberdade é a idade. As relações entre idade ao primeiro parto e o início da ovulação são fatores que podem determinar a precocidade sexual. A idade da puberdade para novilhas zebuínas varia de 22 a 36 meses (SOUZA *et al.*, 1995; ROMANO, 1997, RESTLE *et al.*, 1999), e a idade ao primeiro parto entre 44 e 48 meses (MUKASA MUGERWA, 1989; SOUZA *et al.*, 1995; RODRIGUES *et al.*, 2002). Em raças taurinas, a primeira ovulação ocorre entre 7 e 12 meses, com a primeira cobertura em torno de 15 meses (DOBSON & KAMONPATANA, 1986).

Contudo, novilhas da raça Nelore apresentam diferentes idades à primeira concepção, sugerindo a possibilidade de existência da variação genética entre esses animais quanto à apresentação desta característica (MILAZOTTO *et al.*, 2002). Foi demonstrado que, a baixa pressão de seleção imposta em novilhas da raça Nelore na tentativa de reduzir a idade à puberdade, resultou em um fenótipo com alta variabilidade e alta herdabilidade, permitindo que a seleção dos animais em relação a este critério possua resultados práticos significativos (ELER *et al.*, 2002). Resultados de MacNeil *et al.* (1984) demonstraram que a herdabilidade para idade à puberdade é relativamente alta (0,61). Em novilhas da raça Nelore, a média das estimativas de herdabilidade para a antecipação da idade ao primeiro parto de fêmeas expostas aos touros aos 14 meses de idade foi de 0,19, sugerindo a possibilidade de resposta à seleção para este critério (PEREIRA *et al.*, 2001).

Desta forma, a antecipação da puberdade das fêmeas pode ser obtida ao selecionar novilhas para menor idade ao primeiro parto, uma vez que a identificação da idade à puberdade apresenta dificuldades práticas para a aplicação em criações extensivas (BERGMANN, 1993).

### 3.4.2. Peso e Nutrição

O peso corporal também é um fator importante que afeta o início da puberdade em bovinos. Portanto, o acompanhamento do gado em relação ao ganho de peso diário e avaliação do peso corporal, tornam-se duas alternativas de grande utilidade para a predição deste evento, principalmente no que diz respeito à caracterização de fêmeas que estarão aptas para sua primeira estação reprodutiva (MARSON *et al.*, 2004).

Geralmente, as raças de maior porte são mais tardias e mais pesadas quando atingem a puberdade (MARTIN *et al.*, 1992). Segundo Hess (2002) novilhas de corte precisam atingir cerca de 60 a 65% do peso vivo da idade adulta para alcançarem a puberdade. As novilhas de reposição devem ser desmamadas com o maior peso possível, de acordo com os padrões da raça, sem tornarem-se obesas, visto que o excesso de tecido adiposo em novilhas durante a fase pré-desmama pode resultar em redução do desempenho subsequente desses animais (BAGLEY, 1993).

No Brasil, a recria de bovinos de corte é realizada basicamente em regime de pasto, isso determina que o desenvolvimento corporal fique dependente das condições climáticas. A energia é um dos nutrientes que mais afeta a reprodução em fêmeas bovinas, sendo assim, a ingestão insuficiente de energia está correlacionada com um baixo desempenho reprodutivo, com o atraso na idade à puberdade, no intervalo da primeira ovulação, atraso também no cio pós-parto e na, redução nas taxas de concepção e de prenhez em vacas de corte e de leite (SANTOS, 1998). Com isso, um bom aporte nutricional é necessário para otimizar e baixar a idade à puberdade. Inversamente, uma nutrição inadequada pode alterar de maneira negativa a liberação de LH, provavelmente pela modulação de GnRH no hipotálamo, inibindo assim a ovulação e aumentando a idade à puberdade desses animais (SCHILLO *et al.*, 1992).

Yelich *et al.* (1996) observaram que a restrição alimentar prolongada atrasou o início da puberdade, o que prejudicou a atividade cíclica das novilhas por suprimir a liberação do LH em pulsos de alta frequência, necessários para o crescimento dos folículos ovarianos até o estágio pré-ovulatório. A restrição

nutricional também afeta as concentrações de progesterona no período pré-puberal e nos primeiros dias do ciclo estral, mesmo se os níveis nutricionais forem incrementados próximos ao momento do surgimento da puberdade (PERON & FERNANDEZ, 1995).

Portanto, o ganho de peso entre a desmama e a puberdade é um importante referencial para programas de melhoramento genético. Alencar *et al.* (1987) observaram que novilhas da raça Nelore que apresentaram maior peso aos 12 e 18 meses possuíam menor idade ao primeiro cio. Ao contrário, a restrição alimentar aos 8 meses de idade aumentou a idade e diminuiu o peso à puberdade (BERGFELD *et al.*, 1994). Em outros experimentos também foi detectado o efeito do ganho de peso no período pós-desmame sobre a idade à puberdade, sendo então demonstrado que o aumento da taxa no ganho de peso das novilhas durante o período pós-desmame antecipa a puberdade (BUSKIRK *et al.*, 1995; HALL *et al.*, 1995; LAMMERS *et al.*, 1999; QUINTANS *et al.*, 2004), além de trazer outros resultados positivos como o aumento nas taxas de concepção da primeira cobertura (FLECK *et al.*, 1980; BUSKIRK *et al.*, 1995), o aumento na produção de leite (FERRELL, 1982; BUSKIRK *et al.*, 1995) e o aumento no peso dos bezerros ao desmame (FERREL, 1982). Já a diminuição do ganho de peso neste período pós-desmame teve como resultado o atraso da puberdade (QUINTANS *et al.*, 2004).

O excesso de peso também pode ser prejudicial ao desempenho reprodutivo. Novilhas com o peso inadequado antes do tempo ideal para a reprodução apresentaram dificuldades reprodutivas, já que a composição corpórea, assim como a dieta, interferem no desenvolvimento pós-fertilização dos oócitos, comprometendo a qualidade embrionária e a taxa de concepção (ADAMIAK *et al.*, 2005). Uma questão interessante é a de como o sistema nervoso central (SNC) reconhece que o corpo chegou ao peso adequado para a reprodução. Um dos responsáveis por essa sinalização é a leptina, um hormônio produzido pelos adipócitos que estimula a secreção de IGF-I, além de aumentar a disponibilidade de glicose para o SNC (FOSTER & NAGATANI, 1999).

### 3.4.3. Fatores Genéticos

Primeiramente, torna-se importante considerar as variações genéticas existentes dentro e entre as raças de gado de corte e leite, que corresponde a uma fonte de variação significativa nas avaliações dos efeitos idade e peso à puberdade. Existem importantes diferenças na fisiologia e no comportamento reprodutivo entre *Bos taurus* e *Bos indicus*. Em novilhas taurinas a puberdade geralmente acontece entre 10 - 15 meses e 270 – 350 kg de peso corpóreo, com o parto estimado para 24 - 26 meses de idade (FERRELL, 1982), nos zebuínos, a puberdade acontece em idade mais avançada e com maior peso em relação ao peso adulto (DOBSON *et al.*, 1986), apresentando uma idade à primeira cria que pode chegar aos 44 - 48 meses de idade (NOGUEIRA, 2004).

De acordo com Martin *et al.* (1992) e Bagley (1993), as raças de grande porte realmente apresentam puberdade mais tardia quando comparadas com fêmeas das raças de menor porte. Portanto, a puberdade precoce em animais oriundos de cruzamentos entre o *Bos indicus* e o *Bos taurus* pode ser atribuída à heterose entre as raças (MARSON *et al.*, 2001; RESTLE *et al.*, 1999).

Diferenças entre composições raciais foram constatadas por Marson (2000), que relataram manifestação da puberdade aos 14,4 e 13,3 meses de idade, em novilhas compostas Montana Tropical e ½ zebu x ½ South Devon, respectivamente.

Sabendo-se que a medida do perímetro escrotal dos touros apresenta-se correlacionada com idade à puberdade de suas crias, passou a ser recomendada a sua inclusão em programas de melhoramento genético que visem melhorar a eficiência reprodutiva. Contudo, nos últimos anos, tem-se questionado a eficácia da utilização de tal característica para melhoria da precocidade e fertilidade das fêmeas, argumentando-se que as correlações genéticas têm baixa magnitude. Portanto, há necessidade de se estudar outras características medidas diretamente nas fêmeas e que podem ser indicadoras de fertilidade e precocidade (MARSON *et al.*, 2001).

### 3.5. Antecipação da puberdade em bovinos

#### 3.5.1. Indução hormonal da puberdade

Uma alternativa para antecipar a puberdade em novilhas pré-púberes é o tratamento com hormônios. Alguns deles como as progestinas que são compostos análogos à progesterona (P4) que podem ser administrados por via oral (acetato de melengestrol, MGA), via implantes subcutâneos (norgestomet, Crestar<sup>®</sup>), ou por dispositivos intravaginais contendo P4 (CIDR<sup>®</sup>, DIB<sup>®</sup>, PRID<sup>®</sup> e SINCROGEST<sup>®</sup>), vêm sendo utilizados. Anderson *et al.* (1996) avaliaram o mecanismo pelo qual a exposição ao progestágeno induz a puberdade em novilhas. Os resultados encontrados na pesquisa sugerem que o mecanismo pelo qual os progestágenos induzam a puberdade é pelo fato de proporcionar maior secreção de LH, permitindo o crescimento folicular, que resulta em maior produção de estradiol pelos folículos ovarianos e pico de LH, induzindo a ovulação e conseqüentemente a puberdade. Outro mecanismo seria pela diminuição nos receptores de estradiol no hipotálamo, amenizando ações da retro alimentação negativa do estradiol na secreção de GnRH, possibilitando assim aumento na secreção de LH (DAY *et al.*, 1998).

Grings *et al.* (1998), utilizando Norgestomet em novilhas por 10 dias, verificaram que 89,0% dos animais tratados atingiram a puberdade, enquanto as novilhas que não receberam o implante auricular apenas 71,0% atingiram a puberdade após 18 dias da retirada do implante nos animais tratados.

Rasby *et al.* (1998), avaliaram se o tratamento com dispositivo intravaginal contendo P4 de novilhas pré-púberes por sete dias ou associação deste dispositivo com o benzoato de estradiol seria capaz de induzir a puberdade. Verificaram que a proporção do grupo P4 + estradiol (68,3%) apresentou estro, quando comparados ao grupo P4 (44,1%) e controle (12%).

No Brasil, Claro Junior *et al.* (2008) avaliaram o efeito do tratamento por 12 dias com dispositivo intravaginal contendo P4 (CIDR) previamente utilizado por 27 dias, na indução da puberdade e concepção em novilhas Nelore. Em experimento, o tratamento com CIDR aumentou a porcentagem de novilhas com presença de corpo lúteo (83,4% vs. 40,6%). Sá Filho *et al.* (2006)

avaliaram a utilização ou não do CIDR (previamente utilizado por 24 dias) associado ou não ao benzoato de estradiol (BE) no início e no final do tratamento. A taxa de indução de cio foi de 63,0% para novilhas controle (sem nenhum tratamento), 83,3% para novilhas sem BE no dia da inserção do dispositivo contendo P4 e BE após a retirada do implante e de 78,1% para novilhas que receberam BE no início e no final do tratamento.

Imwalle *et al.* (1998), trabalhando com novilhas pré-púberes, avaliaram se o tratamento por oito dias com MGA estimularia a liberação de LH e crescimento folicular. A puberdade foi monitorada pela análise das concentrações de P4 e morfologia ovariana durante 14 dias após o tratamento. Os autores relataram que, nos animais tratados com MGA houve aumento nos pulsos de LH, e que todas as novilhas tornaram-se púberes em média 10 dias subsequentes ao fim do tratamento. Já no grupo controle não houve mudança no comportamento do LH durante o período analisado e poucas novilhas apresentaram-se púberes no final do experimento. Observaram também que o diâmetro do maior folículo aumentou nas novilhas tratadas com MGA, que nas do grupo controle.

Da mesma forma, Patterson *et al.* (1990), detectaram que o tratamento de novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus* x *Bos taurus* pré-púberes com MGA por sete dias, foi capaz de induzir a puberdade nesses animais. De acordo com os resultados, a exposição hormonal em animais com a idade adequada demonstrou ser benéfica, porém, a exposição de animais muito jovens, à progesterona, deve ser analisada com critério.

Bartol *et al.* (1995), fizeram um trabalho com o objetivo de determinar se a exposição à P4 ou estradiol de bezerras de corte no período neonatal, afetaria a estrutura ou função uterina quando o animal torna-se adulto, e se tais efeitos estariam relacionados com a idade em que a exposição aconteceu pela primeira vez. Os resultados mostraram que a exposição crônica das bezerras aos esteróides, começando 0, 21 ou 45 dias após o nascimento, reduziu os pesos útero-cervicais e alterou a histologia da parede uterina, com casos de perda no desenvolvimento do parênquima endometrial de aproximadamente 75,0%. É importante ressaltar que esses efeitos foram observados nas novilhas quando estas tinham 15 meses.

Portanto, através da indução hormonal, é possível antecipar o primeiro parto desses animais, antecipando também o tempo para obtenção do retorno do capital investido, o aumento da vida reprodutiva da fêmea e o aumento do número de bezerros produzidos (PATTERSON *et al.*, 1992).

### 3.6. Sincronização do estro e da ovulação

Para evitar os problemas da detecção de cio em rebanhos de corte, foram desenvolvidos protocolos de sincronização que permitem inseminar um grande número de animais num período de tempo estabelecido. Esses protocolos permitem controlar o ciclo estral através das ondas foliculares utilizando substâncias hormonais. Estes tratamentos são conhecidos como protocolos de “Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)”, e se dividem entre os que utilizam combinações com o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ), e os que utilizam dispositivos com progesterona ou progestágenos e estradiol (BARUSELLI & MARQUES, 2002). Além destas substâncias, alguns programas incluem preparações de gonadotrofinas placentárias com a gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) (SILVEIRA *et al.*, 2005), uma glicoproteína com elevada atividade de FSH, e a gonadotrofina coriônica humana (hCG), uma glicoproteína com atividade de LH (BARROS & NOGUEIRA, 2001).

É importante diferenciar sincronização, de indução do estro. A sincronização consiste em encurtar ou prolongar o ciclo estral através da utilização de hormônios que induzem a luteólise ou prolongam a vida do corpo lúteo. Já a indução do estro consiste em induzir fêmeas que estejam em anestro, por meio também do emprego de hormônios ou práticas de manejo, sendo estes, processos distintos e aplicados em diferentes categorias animais (MORAES *et al.*, 2001).

Perez *et al.* (2005), utilizando um protocolo de sincronização de estro no início da estação reprodutiva de novilhas inseminadas artificialmente ou expostas a touros, obtiveram um aumento na porcentagem de novilhas que apresentaram cio nos cinco primeiros dias da estação reprodutiva (70,8%



sincronizadas x 25,8% controle), assim como na taxa de prenhez nesta estação (32,5% sincronizadas x 7,8% controle).

Em experimento posterior, Bó *et al.* (1995) afirmaram que, o 17 $\beta$ -estradiol aplicado em combinação com um progestágeno, suprime o desenvolvimento de um folículo dominante e resulta na emergência sincronizada de uma nova onda de crescimento folicular em média quatro dias após o tratamento. Desta forma, estes hormônios esteróides começaram a ser utilizados, procurando sincronizar o crescimento folicular. A progesterona exógena suprime o crescimento do folículo de uma maneira dose dependente, enquanto o estradiol induz o folículo à atresia, dependendo da fase. Segundo Bó *et al.* (2000), o efeito supressivo deste esteróide no folículo ovariano em fêmeas tratadas com progestágenos, é exercido indiretamente através de uma rota sistêmica.

Os análogos sintéticos da prostaglandina, entre eles o Cloprostenol e o Dinoprost, são também utilizados para melhorar os resultados na sincronização estral em bovinos, sendo mais potentes que sua forma natural. Ainda, sintéticos como o Fenprostaleno e Alfaprostol também são utilizados (WRIGTH & MALMO, 1992). Eles funcionam como agentes luteolíticos, determinando a queda dos níveis de progesterona, o desenvolvimento folicular e pico de LH dentro de três dias (MORAES *et al.*, 2001). Pela sua ação luteolítica e estimuladora do miométrio, são empregadas também na indução do parto (WRIGTH & MALMO, 1992).

A prostaglandina-F2 $\alpha$  pode ser utilizada em combinação com progestágenos, com a finalidade de promover uma melhor sincronização do estro, especialmente se for administrada entre 24 e 48h antes da retirada da fonte de progesterona. Considera-se que o aumento da secreção pulsátil de LH durante o período entre a luteólise induzida pela prostaglandina exógena e a remoção do progestágeno, permita um crescimento uniforme do folículo pré-ovulatório (BARROS *et al.*, 2000).

Os protocolos de sincronização do estro que associam o uso do eCG, buscam um maior crescimento folicular compatível com uma melhor resposta ovulatória ao GnRH, possibilitando assim o emprego da IATF. Na busca de desenvolver um programa hormonal para induzir o estro e a ovulação em vacas

com 60 a 75 dias pós-parto e sobre estresse nutricional, Baruselli *et al.* (2003), trabalhando com vacas da raça Nelore com um protocolo hormonal baseado no emprego de eCG, verificaram que o grupo que recebeu eCG na retirada do progestágeno, apresentou uma maior taxa de prenhez após a IATF (38,9% controle vs 55,1% grupo com eCG). Avaliando também a condição ovariana dos animais tratados, constataram que o efeito positivo do eCG aumentou conforme o grau de anestro desses animais.

Baseando-se nas propriedades do eCG, tais como criar condições de crescimento folicular e de ovulação, esta substância passou a ser usada em programas de sincronização e/ou indução do estro. A sua utilização tem se mostrado compensadora em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, em animais recém paridos (pós-parto inferior a 2 meses) e em animais com condição corporal comprometida (BASTOS *et al.*, 2004; BARUSSELI *et al.*, 2004), assim como, em novilhas pré-púberes e púberes (BRANDÃO *et al.*, 2005).

### 3.7. Polímeros

Os polímeros vêm sendo utilizados frequentemente na indústria, entretanto, têm como inconveniente, a grande quantidade de resíduos deixados na natureza pelos polímeros não-biodegradáveis. O aumento substancial do uso de polímeros de origem petroquímica em diversas aplicações nas últimas décadas, tem sido pauta de diversas discussões, pois estes polímeros são descartados rapidamente, gerando um sério impacto ambiental (LUO *et al.*, 2003).

Os plásticos convencionais, tais como propileno (PP), poliestireno (PS), poliestileno (PE) e policloreto de vinila (PVC) apresentam taxas extremamente baixas de degradação, em média 100 anos para total degradação, o que pode levar a sérios problemas relativos ao desequilíbrio ambiental, como, por exemplo, às quantidades crescentes de resíduos plásticos que se acumulam dia após dia, pondo em riscos as relações presentes nos ecossistemas terrestres e marítimos (CHIELLINI *et al.*, 1996).

Além de todos os descartes como garrafas, sacos plásticos, tubos de encanamento, pneus, entre outros no meio urbano, dentro da agropecuária, a agricultura também tem sua contribuição associada às embalagens de sementes, adubo e venenos, e na pecuária, a maior parte dos resíduos é proveniente dos frascos de medicamentos, assim como, dos dispositivos hormonais (ROSA *et al.*, 2002). Os produtos de liberação sustentada de progesterona comercializados atualmente, são confeccionados em silicone e empregam tecnologia importada. Os polímeros sintéticos convencionais derivados do petróleo são inertes ao ataque de microorganismos causando desta forma um sério impacto ambiental (LUO *et al.*, 2003).

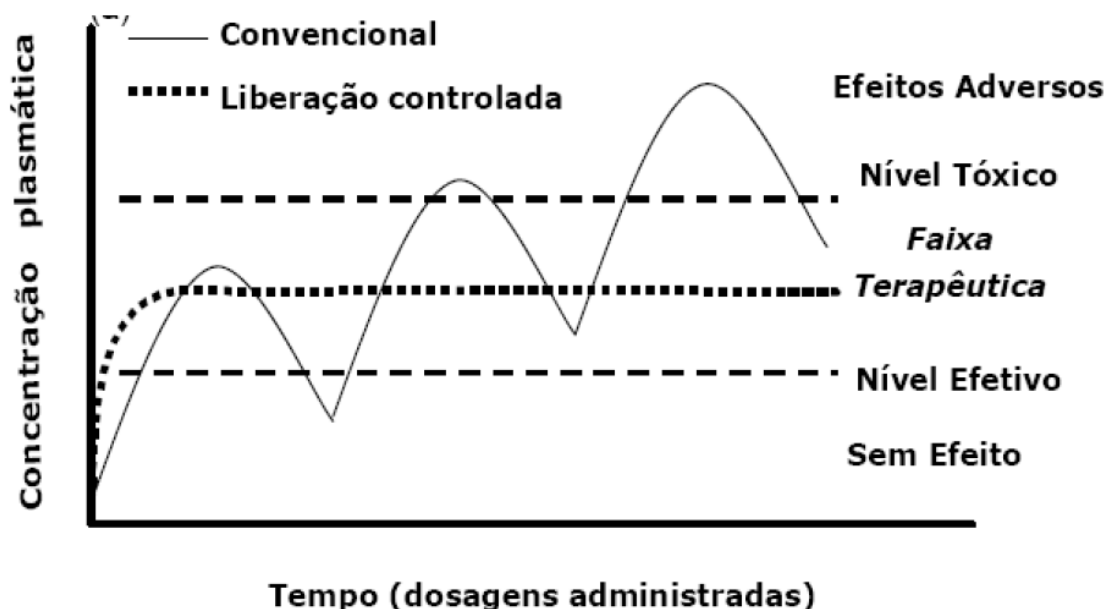
Entre as alternativas encontradas para redução do impacto ambiental, causado pelos polímeros convencionais, surgiram os polímeros de origem bacteriana genericamente denominados polihidroxialcanoatos ou PHAS (CHIELLINI *et al.*, 1998). O biopolímero apresenta degradação resultante da ação de bactérias, fungos e algas de ocorrência natural, sendo desta forma biodegradável (RAGHAVAN, 1995).

O Pluronic que foi utilizado neste experimento, é outro tipo de polímero biodegradável, constituído por duas moléculas de polioxietileno (composto hidrofílico) e uma molécula de polioxipropileno (composto hidrofóbico). As soluções aquosas de Pluronic são atóxicas e estáveis, por isso são adequadas para a utilização em produtos injetáveis (VEYRIES *et al.*, 1999).

A liberação controlada de fármacos tem despertado grande interesse, oferecendo inúmeras vantagens em relação ao sistema convencional de dosagem de medicamentos. Entre elas é possível citar a redução da toxicidade, devido que o fármaco é mantido em níveis terapêuticamente desejáveis no plasma e permite a aplicação de quantidades menores, utilizando uma única dose, regulada pelo próprio organismo (BAKKER-WOUDENBERG, 2002) (Figura 1).

Os compostos formados por Pluronic apresentam características de termosensibilidade (SCHMOLKA, 1972), de forma que, a uma temperatura abaixo da sua temperatura micelar crítica (TMC) (11 °C), o composto se encontra em estado líquido e suas moléculas comportam-se como copolímeros individuais (não associados). Acima da TMC, o polímero torna-se mais

hidrofóbico passando a estado de gel. Estes fatores influenciam diretamente na liberação de fármacos (OHET al., 2004).



**Figura 1:** Demonstração da variação da concentração plasmática de compostos farmacológicos em função do tempo, entre sistemas convencionais de liberação controlada (AZEREDO, 2005).

A degradabilidade dos polímeros pode variar de seis meses a um ano e meio. O processo de degradação de compostos biodegradáveis resulta na formação de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , componentes celulares microbianos e outros produtos (SOUZA *et al.*, 2000). Sendo uma alternativa encontrada para a utilização dos polímeros biodegradáveis no mercado dos plásticos, algumas pesquisas iniciais já foram motivadas pela sua aplicação na área biomédica, tanto na medicina humana, como na medicina veterinária. Como um exemplo na medicina veterinária, podemos citar os implantes intravaginais e também os produtos injetáveis (WINZENBURG *et al.*, 2004).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Animais e local do experimento

O experimento foi realizado na Fazenda Abadia, localizada na estrada Campos/Gargaú, no município de Campos dos Goytacazes-RJ, utilizando um total de 84 novilhas pré-púberes da raça Nelore, com idade entre 18 e 24 meses, com boas condições corporais (figura 2). As novilhas foram mantidas em condições de manejo a pasto com fornecimento de água *ad libitum* e suplementação mineral.



**Figura 2:** Novilhas da raça Nelore com idade entre 18 e 24 meses utilizadas no experimento com POLISINCRO LA<sup>®</sup>.

### 4.2. Seleção dos animais

Foram utilizados no experimento somente animais diagnosticados com ausência de corpo lúteo nas duas avaliações ultrassonográficas que precederam os tratamentos, com um intervalo de 15 dias entre as avaliações.

Após a seleção dos animais aptos para o experimento, eles foram classificados em três categorias de acordo com a mensuração inicial do diâmetro do corno uterino e do maior folículo presente em ambos os ovários (tabela 1). Em seguida, foram distribuídos aleatoriamente entre os três tratamentos.

O diâmetro do corno uterino foi mensurado próximo da bifurcação uterina, e o diâmetro do maior folículo foi observado com uma medida que demonstrasse maior distância entre dois pontos. Estas mensurações foram realizadas antes do início (D0) e no final do tratamento (D24) com o Polisincro LA<sup>®</sup>.

**Tabela 1:** Classificação dos animais em categorias (1 e 2) de acordo com a medida do lúmen no corno uterino e tamanho do maior folículo presente nos ovários (ØFD) para serem randomizados nos tratamentos.

| CLASSIFICAÇÃO |                 |        |
|---------------|-----------------|--------|
| CATEGORIA     | Cornos uterinos | Ø FD   |
| 1             | < 16 mm         | < 8 mm |
| 2             | > 16 mm         | > 8 mm |

Modificado de Anderson et al., (1991).

#### 4.3. Tratamentos com o Polisincro LA<sup>®</sup>

O Polisincro LA<sup>®</sup> foi fabricado no setor de manipulação hormonal da empresa PecGen Embriões, localizada na cidade de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, sendo constituído de uma solução polimérica de progesterona à 5% (formulação não relatada, pois o produto encontra-se em Regime de Patente), apresentando uma forma líquida para aplicação pela via subcutânea, em dose única de 5ml em cada animal.

No tratamento controle os animais receberam apenas aplicação de 5 ml de solução salina estéril (PBS), enquanto no tratamento 1 (Trat.1) os animais receberam a dose de 5 ml da solução polimérica à base de progesterona (POLISINCRO LA<sup>®</sup>) no início do experimento (D0). No tratamento 2 (Trat.2) foram aplicados 5 ml da solução polimérica à base de progesterona (Polisincro LA<sup>®</sup>), associado à 1mg de benzoato de estradiol (estrógeno) por via intramuscular nos animais no início do experimento (Tabela 2).

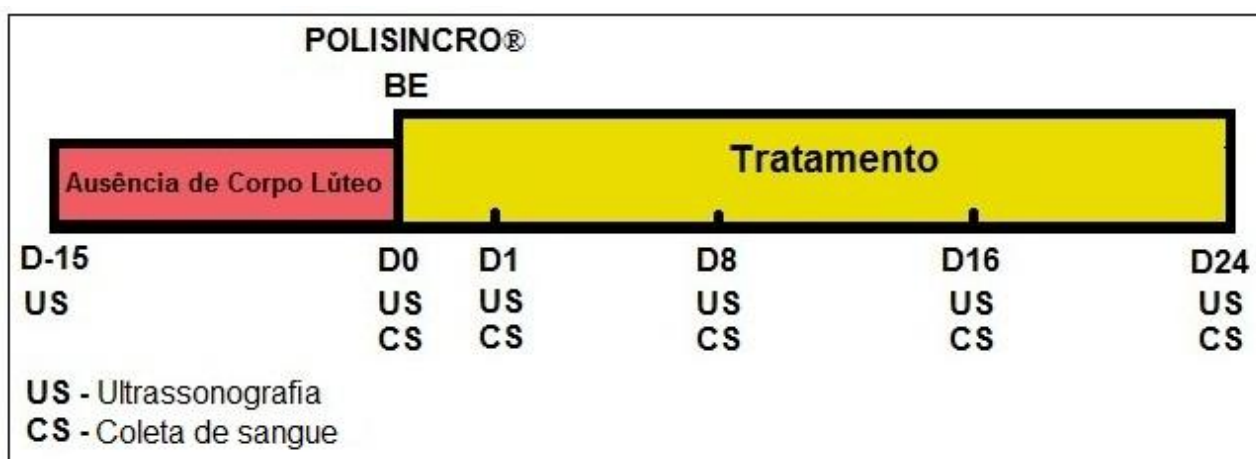
#### 4.4. Ultrassonografia

Todos os animais foram monitorados pelo exame de ultrassonografia transretal (DP-2200 Vet<sup>®</sup>, Mindray, Nanshan, China) pelo mesmo operador, para avaliação da atividade ovariana nos dias D0 (início do tratamento), D1, D8, D16 e D24 (final do tratamento) conforme apresentado na figura 3.

#### 4.5. Determinação da concentração sérica de progesterona

Para dosagem da concentração de progesterona sérica, foram realizadas coletas de sangue por venopunção caudal da coccígea média. O sangue foi coletado em tubos Vacutainer<sup>®</sup> sem anticoagulante, nos dias D0, D1, D8, D16 e D24 (figura 3) do experimento. As amostras foram centrifugadas por 6 minutos a 1500 X g (Centrífuga Clínica Champion<sup>®</sup>, CentriBio), para separação do soro. Em seguida, foram acondicionadas em tubos de microcentrífuga previamente rotulados e conservadas em freezer a -20°C.

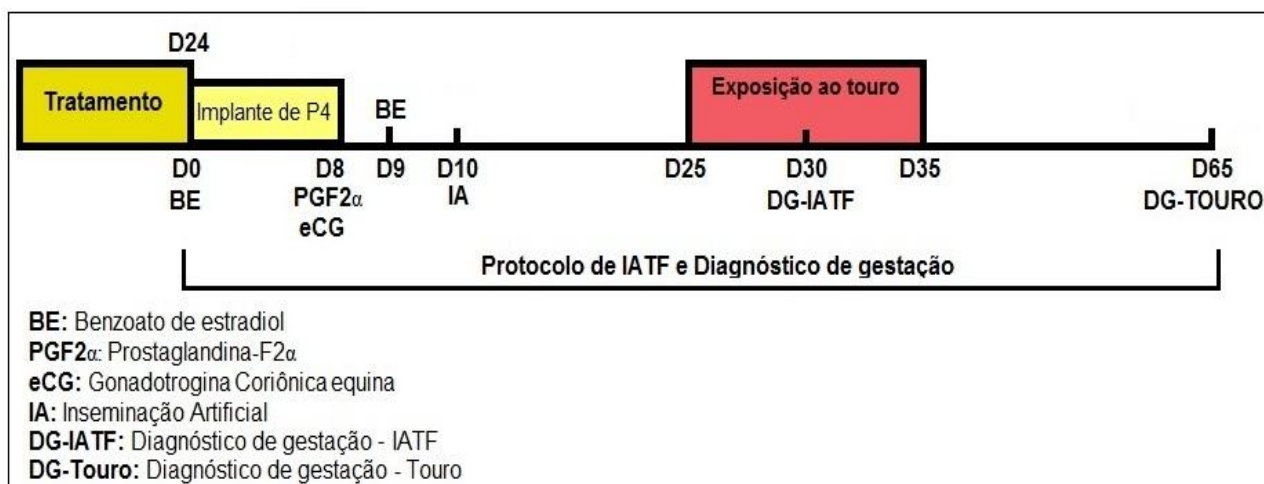
As concentrações de progesterona séricas foram determinadas nas amostras de soro pelo Laboratório Genesis Genetics Brasil, localizado na cidade de São Paulo-SP (Brasil), com o kit de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a Count<sup>®</sup> - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA).



**Figura 3:** Esquema demonstrando os dias de avaliação ultrassonográfica e coleta de sangue (controle, Trat.1 e Trat.2 do experimento) de acordo com a presença ou ausência de POLISINCRO LA<sup>®</sup> e BE no início do protocolo.

#### 4.6. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

No final do tratamento (D24), os animais foram submetidos ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo, conforme figura 4 [(D0: 2 mg de benzoato de estradiol (SINCRODIOL<sup>®</sup>, Ouro Fino, Brasil) + colocação do implante de P4 (SINCROGEST<sup>®</sup>, Ouro Fino, Brasil), D8: Retirada do implante de P4 (SINCROGEST<sup>®</sup>) + 2 ml de Prostaglandina-F2 $\alpha$  (SINCROCIO<sup>®</sup>) + 200 UI de ECG (NOVORMON<sup>®</sup>, MSD saúde animal, Brasil), D9: 1 mg de benzoato de estradiol (SINCRODIOL<sup>®</sup>) e D10: inseminação artificial após as 14:00h)]. A inseminação artificial foi realizada com sêmen proveniente de uma mesma partida e, comercializado por empresa idônea, tendo parâmetros de motilidade, vigor e concentração avaliados previamente. Todos os animais foram inseminados pelo mesmo inseminador. Após 15 dias da inseminação artificial, as novilhas foram expostas aos touros para realização do repasse. Para avaliar a taxa de prenhez referente à indução da puberdade desses animais, após 30 dias da inseminação, o diagnóstico de gestação foi realizado pelo exame de ultrassonografia.

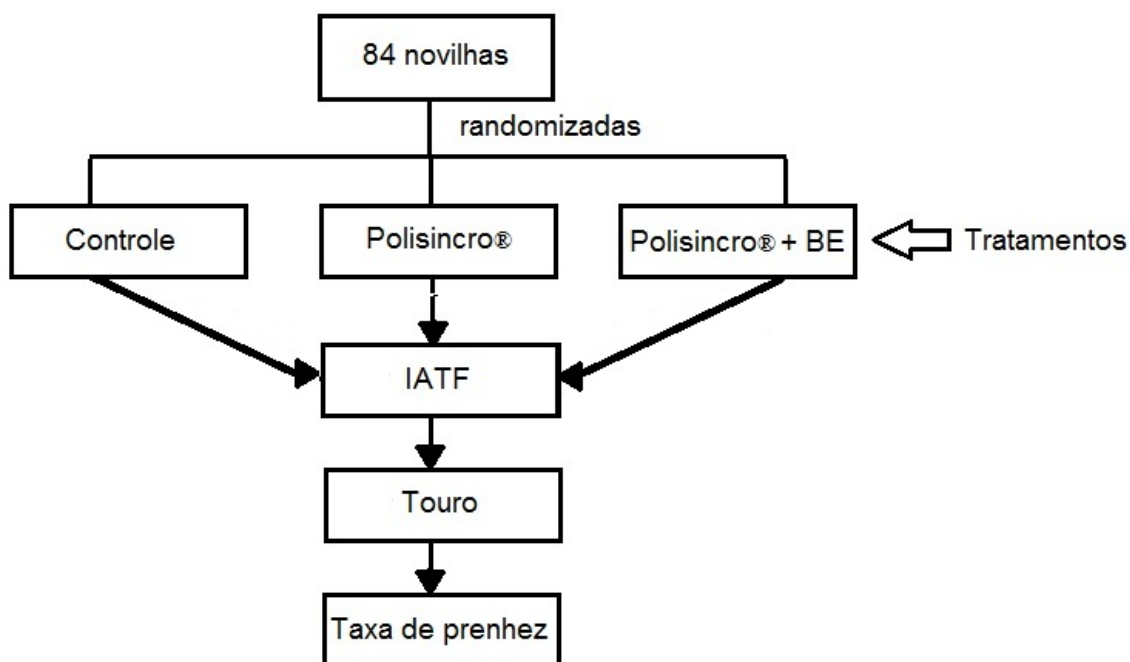


**Figura 4:** Protocolo de IATF foi realizado nas novilhas após o tratamento com a matriz polimérica à base de progesterona (POLISINCRO LA<sup>®</sup>). Iniciando com a colocação do implante de P4 + 2mg de BE (D0), retirada do implante de P4 e aplicação de 2ml de PGF-2 $\alpha$  + 200mg de eCG (D8), no dia seguinte, aplicação de 1mg de BE (D9) e 36h depois Inseminação Artificial (D10). Após 15 dias da IATF, as novilhas foram expostas aos touros para repasse (D26 a D35), sendo realizado o diagnóstico de gestação da IATF 30 dias após a inseminação artificial e 30 dias (D65) após a retirada dos reprodutores do grupo de novilhas.



#### 4.7. Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado. As 84 novilhas foram distribuídas em três grupos, sendo então, realizados os tratamentos: POLISINCRO LA<sup>®</sup>, POLISINCRO LA<sup>®</sup> + BE e Controle. Elas foram submetidas às coletas de sangue e a avaliações ultrassonográficas até o momento da IATF. Em seguida, as novilhas foram expostas aos touros e finalizando o experimento com as taxas de prenhez referentes à IATF e à monta natural (Figura. 5). Os resultados encontrados foram submetidos aos testes estatísticos para comparação de médias e ANOVA.



**Figura 5:** Desenho experimental demonstrando a divisão dos animais em grupos para os devidos tratamentos que foram realizados. Após o período dos tratamentos, as novilhas foram submetidas à IATF e exposição aos touros, finalizando o experimento com os resultados das taxas de prenhez.

#### 4.8. Análise estatística.

A análise dos dados foi realizada por meio da análise de variância, avaliando os efeitos de tratamento e de dias sobre as variáveis tamanho de corno uterino e concentração de progesterona, utilizando para tanto o PROC GLM do SAS (2009). As médias dos tratamentos e dias foram comparadas pelo Teste "t" ao nível de 5% de probabilidade. Para as variáveis da atividade ovariana, prenhez de IATF ou monta natural, foi realizado o teste de Qui-Quadrado/Fisher (SAS, 2009) ao nível de 5% de probabilidade.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Com a hipótese de que as novilhas pré-púberes expostas à progesterona, apresentariam melhor maturidade do aparelho reprodutivo, e, conseqüentemente, maior taxa ovulação e prenhez após IATF e repasse com monta natural. O presente estudo teve como objetivo avaliar se a matriz polimérica de progesterona (POLISINCRO<sup>®</sup>) utilizada no experimento, seria eficiente em induzir a puberdade em novilhas da raça Nelore, avaliando o diâmetro do corno uterino e do maior folículo ovariano, presentes no início e no final do tratamento com a progesterona. A mensuração da concentração sérica de progesterona liberada pela matriz polimérica nos animais tratados e o efeito do pré-tratamento na taxa de ovulação e prenhez dos animais após IATF.

No início do experimento, todas as novilhas foram avaliadas em relação ao diâmetro do corno uterino (tabela 02). Foram obtidas as médias antes do tratamento (17,51 mm, 17,02 mm e 16,83 mm) e após o pré-tratamento (18,62 mm, 17,94 mm e 18,19 mm) para os tratamentos com P4, P4+ BE e controle respectivamente, não diferindo estatisticamente entre os grupos ( $P>0,05$ ).

**Tabela 02:** Valores médios do diâmetro do corno uterino das novilhas em (D0) e (D24), conforme o tratamento hormonal administrado.

| <b>Tratamento</b> | <b>Diâmetro (mm)<br/>D0 (início)</b> | <b>Diâmetro (mm)<br/>D24 (Final)</b> |
|-------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| P4                | 17,51 ± 2,73                         | 18,62 ± 3,01                         |
| P4 + BE           | 17,02 ± 2,91                         | 17,94 ± 2,19                         |
| Controle          | 16,83 ± 3,03                         | 18,19 ± 1,92                         |

Teste “t” ao nível de significância de 5%.

Com relação ao diâmetro folicular foi observado que, os (esses) resultados encontrados no final do tratamento com progesterona, mostraram que, o *status* ovariano no início e no final do pré-tratamento, não diferiram estatisticamente entre os grupos ( $P>0,05$ ).

Porém, ao final do tratamento com progesterona, a porcentagem de novilhas que apresentaram corpo lúteo, diferiu estatisticamente em relação ao início ( $P<0,05$ ), entretanto, não diferindo estatisticamente entre os grupos.

**Tabela 03:** Avaliação do diâmetro do maior folículo presente no ovário por ultrassonografia, de acordo com o tratamento hormonal administrado, sendo classificados como menor que 8 mm, maior que 8 mm ou com presença de corpo lúteo (CL), no início (D0) e no final (D24) do pré-tratamento.

| Tratamento      | D0 (%)    |            |                       | D24 (%)  |            |                         |
|-----------------|-----------|------------|-----------------------|----------|------------|-------------------------|
|                 | < 8mm     | > 8mm      | CL                    | < 8mm    | > 8mm      | CL                      |
| <b>P4</b>       | 17 (5/30) | 83 (25/30) | 0 (0/30) <sup>a</sup> | 7 (2/30) | 30 (9/30)  | 63 (19/30) <sup>b</sup> |
| <b>P4 + BE</b>  | 18 (5/28) | 82 (23/28) | 0 (0/28) <sup>a</sup> | 7 (2/28) | 50 (14/28) | 43 (12/28) <sup>b</sup> |
| <b>Controle</b> | 19 (5/26) | 81 (21/26) | 0 (0/26) <sup>a</sup> | 8 (2/26) | 54 (14/26) | 38 (10/26) <sup>b</sup> |

Teste Qui-Quadrado/Fisher ao nível de significância de 5%.

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem entre si.

Os resultados obtidos sugerem que, tanto a exposição ao estradiol quanto à P4, são importantes no desenvolvimento uterino em concentrações basais. O estradiol pré-ovulatório altera a morfologia do endométrio, como o crescimento e desenvolvimento de células epiteliais glandulares e da luz do endométrio, e a relação destas com a secreção de proteínas uterinas (MURRAY, 1992; JOHNSON et al., 1997). Assim como a progesterona no útero estimula as secreções endometriais glandulares (KIMMINS et al., 2004; ROBINSON et al., 2001; ING et al., 2004). Porém, alguns autores têm demonstrado que o tamanho e peso do útero, cérvix e vagina aumentam rapidamente próximos da puberdade (DESJARDINS et al., 1969; HONARAMOOZ et al., 2004), no presente estudo para o que foi analisado neste estudo em relação ao grupo controle, que mesmo sem nenhum pré-tratamento hormonal, apresentou desenvolvimento uterino e ovariano, não diferindo estatisticamente ( $P > 0,05$ ) dos grupos submetidos ao tratamento hormonal com P4 ou P4+BE.

Day et al. (1987), trabalhando com novilhas pré-púberes, observaram que o peso uterino aumentou rapidamente durante os 50 dias que antecederam a puberdade, e citaram, que, embora a concentração de estradiol não tenha sido avaliada, provavelmente a produção de estradiol deve ter aumentado devido o aumento na secreção de LH, levando ao aumento do peso uterino.

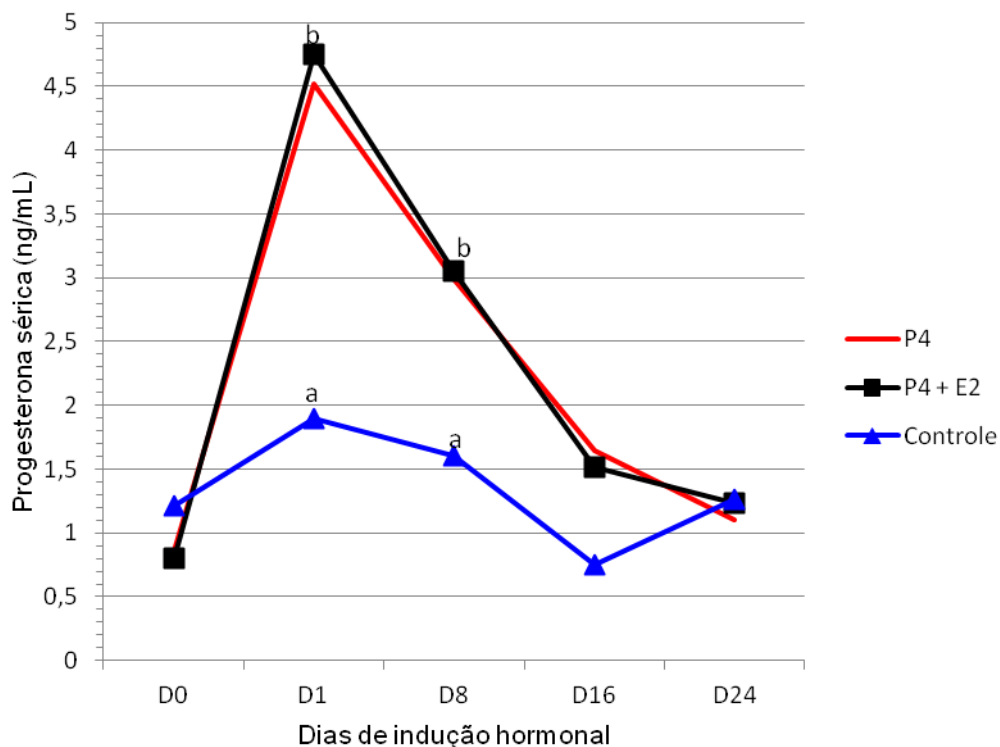
Os resultados encontrados neste experimento podem ser explicados possivelmente a uma alta concentração de P4 liberada pela matriz polimérica que as novilhas foram submetidas. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Claro Junior (2009), e mostrou que novilhas da raça Nelore pré-

púberes, quando expostas ao CIDR de quarto uso (baixa concentração de P4), apresentaram maior crescimento folicular e melhor desenvolvimento uterino do que novilhas expostas a CIDR de primeiro uso (alta concentração de progesterona) e ao tratamento controle.

Roberson et al. (1989), verificaram que vacas que receberam dispositivos intravaginal contendo P4 em níveis subluteais, apresentaram maiores concentrações de BE após a remoção do dispositivos, do que vacas que receberam dispositivos intravaginais que proporcionaram altos níveis de P4.

Anderson et al. (1996), observaram que, durante o tratamento com progestinas, a secreção de LH aumentou nas novilhas expostas a apenas um implante de Norgestomet, já a administração de três implantes de Norgestomet suprimiu a secreção de LH, concordando com outros autores que relataram que a administração de altas doses de P4 suprime a secreção de LH em novilhas (SANCHEZ et al., 1995) e que, independente da fonte de P4 (endógena ou exógena), altas doses de P4 diminuem os pulsos de LH (BERGFELD et al., 1995). Provavelmente, foi o que ocorreu no presente estudo em que, apesar de não terem sido coletadas amostras de sangue para dosagem de LH, possivelmente, as novilhas expostas à matriz polimérica de progesterona tiveram menor pulsatilidade de LH do que o esperado.

Para analisar a concentração de progesterona plasmática liberada pela matriz polimérica, foram realizadas coletas de sangue nos animais submetidos ao tratamento antes e após a indução hormonal (Gráfico 01). Os resultados do presente estudo mostraram que, após a aplicação da matriz polimérica de progesterona, houve uma diferença estatística ( $P < 0,05$ ) na concentração plasmática de progesterona nas novilhas submetidas à indução hormonal, de acordo com as amostras de sangue coletadas 24 h (D1) e 8 dias (D8) após o pré-tratamento entre os grupos P4 e P4+BE em relação ao grupo controle. Estes resultados comprovam a presença e liberação da progesterona pela matriz polimérica, devido ao pico de progesterona observado nos animais submetidos ao tratamento.



**Gráfico 01:** Avaliação da concentração sérica de progesterona nas novilhas antes (D0) e após a indução hormonal (D1, D8, D16 e D24). Letras diferentes no mesmo dia de coleta diferem estatisticamente pelo teste “t” a 5%.

Estudos já demonstraram que a concentração sérica de P4 pode estar elevada mesmo antes da puberdade. Claro Junior (2009) observou que na primeira colheita de sangue, 8,6% das novilhas Nelore pré-púberes (ausência de CL) apresentavam concentrações séricas de P4 acima de 1,0 ng/mL e que na segunda colheita de sangue houve aumento de animais “falso-positivo”, ou seja, animais sem presença de CL, mas com P4 acima de 1,0 ng/mL. Estes dados estão de acordo com Cooke et al. (2008), que, trabalhando com novilhas pré-púberes, detectaram que 55,5% das novilhas Brahman x Angus e 85,7% das novilhas Braford tiveram concentrações séricas de P4 acima de 1,0 ng/mL pelo menos uma vez antes de atingirem a puberdade.

Cooke et al. (2009), relatou que, novilhas adaptadas (manejadas 3 vezes semanalmente durante 4 semanas) tiveram concentrações séricas de P4 menores do que novilhas que não foram manejadas semanalmente. O presente estudo sugere que o aumento da concentração de P4 pode estar relacionado

com o estresse durante as coletas de sangue consecutivas, sendo justificado, pelo fato das novilhas não estarem adaptadas ao manejo do curral.

Com base nesses dados, se definirmos o critério de puberdade para 1,5 ng/mL de P4 em novilhas Nelore, teríamos maior probabilidade de acerto em relação ao início da puberdade (de 87% para 95%), considerando os resultados dos exames ultrassonográficos (CLARO JUNIOR, 2009).

Para comprovar a indução da puberdade após o tratamento das novilhas com a progesterona, foi realizado um protocolo de IATF em todos os animais com o mesmo touro, a mesma partida e inseminador, com objetivo de avaliar a taxa de prenhez e ovulação desses animais.

Os resultados mostraram que as novilhas submetidas ao pré-tratamento com progesterona, não apresentaram diferença ( $P>0,05$ ) na taxa de concepção e ovulação após IATF em relação aos grupos (Tabela 04).

**Tabela 04:** Taxas de prenhez da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) das novilhas conforme o tratamento hormonal administrado, avaliando a presença ou ausência de corpo lúteo nas novilhas negativas ao diagnóstico de gestação por ultrassonografia.

| Tratamento | Prenhe      | Vazia com CL | Vazia sem CL |
|------------|-------------|--------------|--------------|
| P4         | 40% (12/30) | 43% (13/30)  | 17% (5/30)   |
| P4 + BE    | 39% (11/28) | 39% (11/28)  | 22% (6/28)   |
| Controle   | 46% (12/26) | 42% (11/26)  | 12% (3/26)   |

Teste Qui-Quadrado/Fisher ao nível de significância de 5%.

Após 10 (dez) dias da IATF, as novilhas foram submetidas ao repasse por touros, com objetivo de verificar a indução da puberdade nesses animais, através da taxa de ciclicidade e prenhez após repasse com os touros.

Os resultados indicaram que as taxas de prenhez do repasse por touro não foram diferentes estatisticamente entre os grupos ( $P>0,05$ ). Porém, a taxa de novilhas vazias sem presença de corpo lúteo no dia da avaliação por ultrassonografia foi menor no grupo controle do que nos grupos de pré-tratamento com P4 e P4+BE (Tabela 05). Estes resultados possivelmente podem ser explicados pela alta concentração de P4 liberada pela matriz polimérica. Em estudo, Claro Junior (2009) observou que as novilhas pré-púberes que foram expostas ao CIDR de primeiro uso (alta concentração de

progesterona), não apresentaram diferença estatística na taxa de concepção em relação às novilhas controle (não receberam CIDR).

**Tabela 05:** Taxas de prenhez das novilhas à IATF e após o repasse por touro, conforme a indução hormonal administrada, avaliando a presença e ausência de corpo lúteo (CL) nas novilhas negativas ao diagnóstico de gestação por ultrassonografia.

| <b>Tratamento</b> | <b>Prenhez IATF</b> | <b>Prenhez Touro</b> | <b>Vazia com CL</b> | <b>Vazia sem CL</b>     |
|-------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-------------------------|
| P4                | 40% (12/30)         | 23% (7/30)           | 20% (6/30)          | 17% (5/30) <sup>a</sup> |
| P4 + BE           | 39% (11/28)         | 25% (7/28)           | 25% (7/28)          | 11% (3/28) <sup>a</sup> |
| Controle          | 46% (12/26)         | 30% (8/26)           | 19% (5/26)          | 3% (1/28) <sup>b</sup>  |

Letras maiúsculas distintas na mesma linha e Letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem estatisticamente pelo Teste Qui-Quadrado/Fisher ao nível de significância de 5%.

Vários estudos têm relatado que animais que ovulam folículos menores, apresentam menores concentrações de P4 subsequente, levando a uma menor taxa de prenhez, pois se sabe que existe correlação entre o P4 no diestro e taxa de prenhez (MUSSARD et al., 2002; PERRY, et al., 2005). Novilhas com maior escore de condição uterina, apresentaram maiores taxas de estro no início da estação de monta, conseqüentemente, maiores taxas de concepção em novilhas com escore de condição uterina menor (CLARO JUNIOR, 2009).

Anderson et al. (1991), mostram que novilhas com melhor escore do aparelho reprodutor, apresentaram maiores taxas de prenhez ao final da estação e monta. Mantanholi et al. (2004), trabalhando com novilhas, verificaram que animais com escore do aparelho reprodutivo < 3 (escala de 1 a 5), tiveram taxas de prenhez cerca de 10% a 20% menores que animais com escore menores.

Sendo assim, para obtermos altas taxas de concepção, prenhez e ovulação após tratamentos de indução hormonal em novilhas pré-púberes, os efeitos sobre o diâmetro folicular e escore de útero devem ser avaliados e observados entre os animais tratados e não tratados.



## 6. CONCLUSÃO

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

- A matriz polimérica de Progesterona (POLISINCRO LA<sup>®</sup>) foi eficiente na liberação de P4, comprovado pela elevação da concentração sérica de P4 durante o tratamento.
- Porém, a matriz polimérica de Progesterona (POLISINCRO LA<sup>®</sup>) não induziu a puberdade em novilhas da Raça Nelore, com a concentração de P4 utilizada.
- A matriz polimérica de Progesterona (POLISINCRO LA<sup>®</sup>) não interferiu no diâmetro do corno uterino e presença de CL, com a concentração de P4 utilizada.
- A matriz polimérica de Progesterona (POLISINCRO LA<sup>®</sup>) não interferiu na taxa de prenhez após IATF e monta natural, com a concentração de P4 utilizada.
- Com base nos resultados, novos estudos com diferentes concentrações de P4 veiculada na matriz polimérica, devem ser realizados.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACNB – **Associação dos Criadores de Nelore do Brasil**. Histórico da Raça Nelore. (eletronic publication). Disponível em 2006. <http://www.nelore.org.br/default3.asp>>. Acesso em 30 nov. 2006.

ADAMIAK, S.J.; MACKIE, K.; WATT, R.G. WEBB, R.; SINCLAIR, K.D.J. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyper insulinemia in cattle. **Biol. Reprod.**; v.73, p. 918-926, 2005.

ADAMS, G.P. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.17-32, 1999.

ALENCAR, M.M.; COSTA, J.L.; CORREIA, L.A. Desempenho reprodutivo de fêmeas das raças Canchim e Nelore. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.22, p.753-758, 1987.

ANDERSON, K.J., LEFEVER, D. G., BRINKS, J. S., ODDE, K. G. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. **Agri-Practice**, v. 12, p. 123-128, 1991.

ANDERSON, L. H., McDOWELL, C. M., DAY, M. L. Progesterin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v.54, n.54, p. 1025-31, 1996.

AZEVEDO, M. M. M., Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína; caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas. Teses de Doutorado – Campinas-SP, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 177p, 2005.

BAGLEY, C.P. Nutritional management of replacement beef heifers – **A review Journal of animal science**, v.71, n.11, p.3155-3163, 1993.

BAKKER-WOUDENBERG, I. A. J. M., Long-circulating sterically stabilized liposomes as carriers of agents for treatment of infection or for imaging infectious foci. **Int. j. Antimicrob Agents.**, 19: 299-311, 2002.

BARROS, C.M.; NOGUEIRA, M.F.G Embryo transfer in Bos Indicus cattle. **Theriogenology**, v.56, p. 1483-1496, 2001.

BARROS, C.M. et al. Controle farmacológico do ciclo estral e superovulação em zebuínos de corte. **In: Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica, USP, 2000, 332p.

BASTOS, G.M, et AL. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, v.62, p.847-853, 2004.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O. Programas de IA a tirmpo fijo em *Bos indicus*. Segunda parte. **Taurus**, v.13, p. 9-21, 2001.

BARUSELLI, P.S. et AL. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte, In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina, PR. **Anais...**246. p.155, 2004.

BARUSELLI, P.S. et AL. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v.59, p.214, 2003.

BARUSELLI, P.S. & MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estro em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do...**, p. 41-60, 2002.

BARTOL, F. F., JOHNSON, L. L., FLOYD, A. A. *et al.* Neonatal exposure to progesterone and estradiol alters uterine morphology and luminal protein content in adult beef heifers. **Theriogenology**, v. 43, p. 835-844, 1995.

BELTRAN, M.P. Possíveis efeitos da leptina e do IGF-1 plasmático sobre a puberdade e a precocidade sexual de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*). Tese de doutorado, **Universidade de São Paulo**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal 2007.

BERDFELD, E.G.M.; KOJIMA, F.N.; CUPP, M.E.; PETERS, K.E.; GARCIA-WINDER, M.; INDER, J.E. Ovarian follicular development in prepubertal heifers in influenced by level of dietary energy intake. **Biol. Reprod.**, v.51, p.1051-1057, 1994.

BERGFELD, E. G., KOJIMA, F. N., WEHRMAN, M. E., CUPP, A. S., MARISCAL, V., SANCHEZ, T., KITOK, R., GARCIA-WINDER., KINDER., J. E. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17 $\beta$ -estradiol in cows is related to concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 257, 1995.

BERGMANN, J.A.G. Indicadores de precocidade sexual em bovinos de corte. In: Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas, 1998, Uberaba. **Anais...**Uberaba: Associação Brasileira de criadores de Zebu, 1998, p.145-155.

BERGMANN, J.A.G. Melhoramento genético da influência reprodutiva em bovinos de corte. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 1993, Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte, 1993, p.70-86 (suplemento).

BERGMANN, J. A. G., ZAMBORLINI, L. C., PROCÓPIO, C. S. O., ANDRADE, V. J., VALE FILHO, V. R. Estimativas de parâmetros genéticos do perímetro escrotal e do peso corporal em animais da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, n. 1, p. 69-78, 1996.

BÓ, G.A. et al. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 $\beta$  on ovarian follicular dynamics in heifers with progestagens implants. **Animal Reproduction Science**, v.59, p.141-157, 2000.

BÓ, G.A. et al. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.31-40, 1995.

BOSSIS, I.; WETTEMANN, R.P.; WELTY, S.D. et al. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology and Reproduction**, v. 62, p. 1436-1444, 2000.

BRANDÃO, B.J.F. et AL. Efeito da progesterona ePMSG no comportamento reprodutivo de Novilhas da Raça Hereford. Disponível em: <http://www.sbz.org.br/eventos/fortaleza> Acesso em: 20/09/2005.

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

CHIELLINI, E.; SOLARO, R. Biodegradable polymeric materials. **Advance Materials**, v.8, n.4, p\_\_\_\_, 1996.

CLARO JUNIOR, I., PERES, R. F. G., SÁ FILHO, O. G., LOPES, C. N., ROMERO, W. S. R., VASCONCELOS, J. L. M. Tratamento com CIDR<sup>®</sup> previamente utilizados por 27 dias na indução de ciclicidade e concepção em novilhas nelore pré-púberes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES XXII, GUARUJÁ. **ANAIS...**Guarujá: Acta Scientiae Veterinariae, 2008, p. 607.

CLARO JUNIOR, I., Desempenho reprodutivo de novilhas Nelore pré-púberes expostas à progesterona. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009.

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

COOKE, R. F., AUSTIN, B. R., YELICH, J. V., ARTHINGTON, J. D. Effects of acclimation to handling on performance reproductive and physiological responses of Brahman-crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, 2009 (*in press*).

DAHLEN, C.R.; LAMB, G.C.; ZEHNDER, C.M. et al., Fixed-time insemination in peripuberal, light weight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2 alpha and GnRH. **Theriogenology**, v.59, n° 8, p.1827-1837, 2003.

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

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

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

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

DOBSON, H.; KAMONPATANA, M.A. Review of female cattle reproduction with special reference to a comparison between buffaloes, cows and zebu. **J. Reprod. Fert.**, v.77, p.1-36, 1986.

DODSON, S. E. et al. Endocrine changes from birth to puberty in the heifers. **Journal and Fertility**, v. 82, p. 527-538, 1988.

ELER, J.P.; SILVA, J.A. IIV.; FERRAZ, J.B.S.; DIAS, F.; OLIVEIRA,H.N.; EVANS, J.L.; GOLDEN, B.L. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for nelore heifers. **J. Anim. Sci.**, v.80, p.951-954, 2002.

FERRAZ, J.B.S. e ELER, J.P. Seleção de *Bos indicus* para precocidade sexual; **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.167-171, abr./jun. 2007.

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

FIKE, K. E. et al. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, p. 2009-2015, 1997.

FLECK, A. T., SCHALLES, R. R., KIRACOFÉ, G. H. Effect of growth rate through 30 months on reproductive performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.51, p. 816 – 821, 1980.

FORTUNE, J.E. et al. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v.65, p. 648-654, 2001.

FOSTER, D.L.; NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as regulation of reproduction: role in timing puberty. **Biol. Reprod.**, v.60, p. 205-215, 1999.

GALINA, C.S.; ARTHUR, G.H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part1, Puberty and age at first calving. **Anim. Breed. Abstr.**, v.57, n.7, p. 585-590, 1989.

GARVEICK, H.A., SMITH, M. Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. **The veterinary clinics of north America**. Food Animal Practice. Philadelphia, v.9, n.2, p.223-246 July 1993.

GONÇALVES, P.B.D.; NEVES, J.P.; OLIVEIRA, J.F.C. et AL. Fisiologia do ciclo estral. Simpósio Avanços na Reprodução Bovina, Pelotas. **Anais...**, Editora Universitária, UFPel. P. 11-24,2000.

GONZALEZ-PADILLA, E. et al. Puberty in beef heifers. II Effects of injections of progesterone and estradiol-17 $\beta$  on serum LH, FSH and ovarian activity. **Journal of Animal Science**, v.40, p. 1105-1109, 1975.

GRINGS, E., EHALL, J. B., BELLOWS, R. A., SHORT, R. E., STAIGMILLER, R. B. Efecy of nutritional management, trace mineral supplementation, and norgestomet implant on attainment of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2177-2181, 1998.

HAFEZ E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7<sup>a</sup>ed. São Paulo: Ed. Manole, 2004. p.513.

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

HALL, J. B., STAIGMILLER, R. B., SHORT, R. E., BELLOWS, R. A., MACNEIL, M. D., BELLOWS, S. E. Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestin in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1606-1611, 1997.

HENRICKS, D. M., LONG, J. T., HILL, J. R. The various effects of prostaglandin F2 $\alpha$  during various stages of estrous cycle of beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.41, p. 113-120, 1974.

HESS, B.W. Estratégias para antecipar a puberdade em novilhas. Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, **Anais...**, Uberlândia, p. 118-126, 2002.

HONARAMOOZ, A. et al. Opioidergic, dopaminergic and adrenergic regulation of LH secretion in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.119, p.207-215. 2000.

HONARAMOOZ, A., ARAVINDAKSHAN, J., CHANDOLIA, R. K., BEARD, A. P., BARTLEWSKI, P. M., PIERSON, R. A., RAWLINGS, N. C. Ultrasonographic evaluation of the pre-puberal development of the reproductive tract in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 90, p. 15-29, 2004.

IBGE 2011- acessado em 03/09/2011, 14:00h.

[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/tabelas\\_pdf/tab01.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/tabelas_pdf/tab01.pdf)

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, p. 1432-1436, 1998.

ING, N., ZHANG, Y. Cell-specific expression of estrogen-responsive genes in the uterin of cyclic, early pregnant and ovariectomized ewes. **Theriogenology**, v. 62, p. 403-414, 2004.

JARDIM, P.O.C., PIMENTEL, M.A. **Bovinos de corte**. Pelotas: Editora Universitária - UFPel, 1998. 185 p.

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 Reproduction**, v. 57, p. 588-596, 1997.

KASTELIC, J. P.; CURRAN, S.; PIERSON, R. A. *et al.* Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. **Theriogenology**, v. 29, p. 39-54, 1988.

KASTELIC, J.P. Folliculogenesis in cattle. 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal aplicada, Londrina-PR. **Anais...**, p. 17-25, 2004.

KIMMINS, S., LIM, H. C., MACLAREN, L. A. Immunohistochemical localization of integrin alpha V and beta 3 and psteopontin suggests that they do not interact during embryo implantation in ruminants. **Reproduction Biology Endocrinology**, v.2, p. 19-32, 2004.

KINDER, J.E.; DAY, M.L.; KITTOK, R.J. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. **J. Of Reprod. And Fert.**, Supplement, v.34, p.167-186,1987.

KINDER, J. Proceedings annual conference artificial insemination and embryo transfer in beef cattle. **National Association of Animal Breeders**, Denver, Colorado, EE.UU. 1984, p.13-20.

KINDER, J.E. et al.; Endocrine basis for puberty in heifer and ewes. **J. Reprod. And fert.** Supplement, Oxford, V.49, p.393-407, 1995.

KULICK, L. J., KOT, K., WILTBANK, M. C. *et al.* Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 52, n. 5, p. 913-921, 1999.

LAMMERS, B. P., HEINRICHS, A. J., KENSINGER, R. S. The effects of accelerated growth rates and estrogen implants in prepubertal Holstein heifers on estimates of mammary development and subsequent reproduction and milk production. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 1753 – 1764, 1999.

LUO, S.; NETRAVALI, A. N. A study of physical and mechanical properties of poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) during composting. **Polymer Degradation and Stability**, v.80, p. 59-66, 2003.

MACMILLAN, K.L; PETERSON, A>J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v.33, p.1-25, 1993.

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

MONTANHOLI, Y. R., BARCELLOS, J. O. J., BORGES, J. B., COSTA, E. C., WUNSH, C., PRATES, E. R. Ganho de peso na recria e desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas com sobreano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p 1253-1259, 2004.

MARTIN, L.C.; BRINKS, J.S.; BOURDON, R.N.; CUNDIFF, L.V. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. **J. Anim. Sci.**, v.70, p.4006-4017, 1992.

MARTIN, G.B. Social-sexual signs and reproduction in mammals – an overview. In: CURSO INTERNACIONAL SOBRE FEROMONAS Y BIOESTIMULACIÓN SEXUAL, 1., 2002. **Anais...**Universidad Nacional Autonoma de Mexico, 2002. p.11-28.

MACKINNON, M.J.; TAYLOR, J.F.; HETZEL, D.J.S. Genetic variation and covariation in beef cow and bull fertility. **J. Anim. Sci.** v.68, p.1208-1214, 1990.

MANN, G. E., LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-180, 2001.

MARSON, E.O.; GUIMARÃES, J.D.; MIRANDA NETO, T. Puberdade e maturidade sexual em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. V.28, n.1, p.3-12, 2004.

MARSON, E. P., GUIMARÃES, J. D., SILVA, J. C. P., NETO, T. M., GUIMARÃES, S.E. F., BORGES, A. M., MARTINS, G. J. T., SANTOS, R. L. D.



Concentrações plasmáticas de progesterona em novilhas compostas Montana tropical durante as fase pré-puberal e puberal. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, p. 134 – 136, 2001.

MARSON, E.P. Características reprodutivas e produtivas em novilhas compostas Montana tropical. 2000. 177f. Dissertação de (mestrado) – **Universidade Federal de Viçosa**, MG, 2000.

MATTOS, S.; ROSA, A.N. Desempenho reprodutivo de fêmeas da raça zebuínas. **INF. Agropec.** V.10, n.112, p.29-33, 1984.

MEIRELLES, S. L. Efeitos genéticos e ambientais sobre características de precocidade sexual em bovinos Nelore. 2004. 74f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, **Universidade Estadual Paulista**. Jaboticabal, 2004.

MEYER, K.; HAMMONO, K.; PAMELL, P.F. MACKINNON, M.J; SILVARAJASINGAM, S. Estimates of herdability and repeatability for reproductive traits in Australian beef cattle. **Liv. Prod. Sci.**, v.25, p.15-30, 1990.

MILAZOTTO, M.P.; PERRI, S.H.; LAMPAGNARI, F.; GARCIA, J.F. Genetic analysis of early puberty phenotype in *Bos primigenius indicus*. **Theriogenol.**, v.57, n.1, p. 613, 2002.

MONTGOMERY, G.W.; SCOTT, I.C. & HUDSON, N. NA interaction between season of calving and nutrition on the resumption of ovarian cycles in post-partum beef cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 73, p. 45-50, 1985.

MORAES, J.F.C.; et al. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J. **Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. Cap.2. p.25-55.

MORAES, J.F.C et AL. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo. Livraria Varela, 2001. Cap.2. p.25-55.

MORAN, C. et al. Puberty in heifers: a review. **Animal Reproduction Science**, v.18, p.167-182, 1989.

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

MUSSARD, M. L., BURKE, C. R., BEHLKE, E. J., GASSER, C. L., ROBINSON, A. R., KINDER, J. E., DAY, M. L. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation,

luteal function, and fertility in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 66, (Suppl 1), p. 266, 2002.

MUKASA MUGERWA, E.A. Review of reproductive performance of female *Bos indicus* (zebu) Cattle. **IICA-monograph**, n.6, v.134, p. 1989.

NAKADA, K. et al. Changes in response to GnRH on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Development**, v. 48, p. 545-551, 2002.

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

NOGUEIRA, G.P. Puberdade em novilhas nelore. 2003, 89f. Tese (livre docência) – **Faculdade de Odontologia de Araçatuba**, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2003.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in post-partum cattle. **Journal of Animal Science**. V. 68, p. 817-830, 1990.

OLIVEIRA, C. M. G., FILHO, B. D. O., GAMBARINI, M. L., VIU, M. A. O., LOPES, D. T., SOUSA, A. P. F. Effects of biostimulation and nutritional supplementation on pubertal age and pregnancy rates of Nelore heifers (*Bos indicus*) in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, 2007.

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

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

PENNEL, P.L.; ZALESKY, D. D.; DAY, M.L. Influence to bull exposure on initiation of estrous cycles in prepubertal beef heifers. **J. Anim. Sci.**, v.63 (suppl 1), p. 129, 1986.

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

PEREZ, G.C.; SILVA, A.T.N.; PEREZ, M.C.; et al., Efeitos de estratégias de manejos na distribuição da prenhez no decorrer da estação de monta de novilhas cruzadas. 16º **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiania-GO. ANAIS..., p.1, 2005.

PERON, N.; FERNADEZ, Y.O. Influencia del nivel alimentario bajo-moderado en los valores de progesterone sanguine en novilhas  $\frac{3}{4}$  hostein X  $\frac{1}{4}$  Cebú. **Revista Cubana de reprodução animal**, V12, n.1, p.81-91, 1995.

PERRY, R. C., CORAH, L. R., COCHRAN, R. C., BRETHOUR, J. R., OLSON, K. C., HIGGINS, J. J. Effect of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. **Journal Prod. Agric.**, v. 4, n. 1, p. 13 – 18, 1991.

PERRY, G. A., SMITH, M. F., LUCY, M. C., GREEN, A. J., PARKS, T. E., MacNEIL, M. D., ROBERTS, A. J., GEARY, T. W. Relationship between follicle size and pregnancy success. **Proc Nat Acad Sci**, v. 102, n.14, p. 5268-5273, 2005.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; VALLE, E. R.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore Cattle (*Bos indicus*) with natural estus or estrus induced with prostaglandin F<sub>2</sub> or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-681, 1998.

QUADROS, S. A. F., LOBATO, J. F. P. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 679 – 683, 2004.

QUINTANS, G., STRAUMANN, J. M., AYALA, W., VASQUEZ, A. I. Effect of winter management on the onset of puberty in beef heifers under grazing conditions. **15<sup>th</sup> International Congress Animal Reproduction**, 2004.

RAGHAVAN, D. Characterization of Biodegradable Plastics. **Polym. Plast. Technol. Eng.**, v. 42, n.1, p.41-63, 1995.

RASBY, R. J., DAY, M. L., JOHNSON, S. K., KINDER, J. E., LYNCH, J. M., SHORT, R. E., WETTEMANN, R. P., HAFS, H. D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, p. 55-63, 1998.

RAWLINGS,N.C.; EVANS, A.C.O.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P.M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepuberal cattle, sheep and goats. **Anim. Reprod. Sci.**, v.78, p.259-270, 2003.

RESTLE, J.; POLLI, V.A.; SENNA, D.R. Efeito do grupo genético e heterose sobre a idade e peso a puberdade e sobre o desenvolvimento reprodutivo de novilhas de corte. **Pesq. Agrop. Bras.**; v.34, n.4, p.701-707, 1999.

REKWOT, P. I., OGWU, D., OYEDIPE, E. O., SEKONI, V. O. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 65, p. 157 – 70, 2001.

RHODES, F. M., BURKE, C. R., CLARK, B. A., DAY, M. L., MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrus cycles. **Animal Reproduction Science**, v. 69, p. 139-15, 2002.

ROBERSON, M.S., WOLFE, M.W., STUMPF, T.T. Influence of growth rate and exposure to bulls on age at puberty in beef heifers. **J. Anim . Sci.**, v.69, p. 2092-2098, 1991.

ROBERSON, M. S., WOLFE, M. W., STUMPF, T. T., KITTOK, R. J., KINDER, J. E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 41, p. 997-1003, 1989.

ROBINSON, R. S., MANN, G. E., LAMMING, G. E., WATHES, D. C. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. **Reproduction and Fertility**, v. 122, p. 965-979, 2001.

RODRIGUEZ, R. E.; WISE, M.E. Advancement of postnatal pulsatile luteinizing hormone secretion in the bull calf by pulsatile administration of gonadotropin realising hormone during infantile development. **Biology of Reproduction**, v.44, p. 432-439, 1991.

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

ROMANO, M.A. Efeito do nível nutricional sobre a antecipação da idade à puberdade e caracterização da dinâmica folicular nos períodos pré e pós-púbere em novilhas nelore. 1997. 103f Tese (doutorado em reprodução animal) **Faculdade de medicina veterinária e zootecnia**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M. Análise do Desenvolvimento de Dióxido de Carbono de Polímeros Biodegradáveis quando Submetidos a Lodo Ativado, **Congresso Brasileiro de Polímeros, 5.**, 1999, p. 1241.

ROSA, D. S.; CHUI, Q. S. H.; FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da Biodegradação de Poli-b-(Hidroxibutirato), Poli-b-(Hidroxibutirato-co-Valerato) e Poli-e-(caprolactona) em Solo Composto. **Polímeros**, v.12, nº 4, São Carlos, 2002.

ROSENKRANS, K.S. & HARDIN, D. K. Repeatability and accuracy of reproductive tract scoring to determine pubertal status in beef heifers. **Theriogenology**, v. 59, n. 5-6, p. 1087-1092, 2003.

SÁ FILHO, M. F., AYRES, H., REZENDE, L. F. C., PENTEADO, L., NASSER, L. F., SOUZA, A. H., BARUSSELI, P. S. Efeito da indução de ciclicidade com dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção a inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, XX, 2006, Araxá. **Anais...Araxá: Acta Scientiae Veterinariae**, 2006, p.403.

SÁ FILHO, O. G. Efeito de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura do corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto. 2007. 137 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, **Universidade Estadual Paulista**, Botucatu, 2007.

SANTOS, J.E.P. AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. **Arquivo da faculdade de Veterinária UFRGS**, v.26, n.1, p.19-89, 1998.

SANCHEZ, T., WEHRMAN, M. E., KOJIMA, F. N., CUPP, A. S., BERGFELD, E. G., PETERS, K. E., MARISCAL, V. KITTOCK, R. J., KINDER, J. E. Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 $\beta$ -estradiol in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 464-469, 1995.

SATO, S.; HONDA, Y.; OHTA, M. Behavioural interactions of a bull with cows and the resumption of estrous. **Anim. Sci. Technol.**, v.65, n.6 , p. 538-46, 1994.

SATURNINO, H. M.; NORTE, A.L., Efeito da presença do macho sobre a eficiência reprodutiva de vacas zebu. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., 1993, Belo Horizonte. **Anais... Belo Horizonte: v.2. 1993. p.182.**

SCHILLO, K.K.; HALL, J.B.; HILEMAN, S.M. effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. **J. anim. Sci., Champaign**, v.70, n.12, p.3994-4005, Dec.1992.

SCHMOLKA, I. R., Preparation and proprieties of pluronic F-127 gels for treatment of bums. **J. Biomed Mater Res.**, 6:571-582, 1972.

SCHOPPEE, P. D.; ARMSTRONG, J. D.; HARVEY, R. W.; WASHBURN, S. P.; FELIX, A.; CAMPBELL, R. M. Endocrine and ovarian responses to exogenous estradiol-17 $\beta$  6-month-old heifers previously immunized against growth hormone-releasing factor. **Journal of Animal Science**, v. 73, p.2071-2078, 1995.

SHORT, R.E. et al. Induced or synchronized puberty in heifers. **Journal of Animal Science**, v.43, p.1254-1258, 1976.

SHORT, R. Y., STAIMILLER, R. B., BELLOWS, R. L. et al. Breeding heifers at one year of age: biological and economic considerations. In: FIELDS, M.J.; SAND, R.S. (Eds.) **Factors affecting calf crop**. London: CRC Press, p.55 – 68, 1994.

SILVEIRA et al. Proposta de um novo sistema de indução de estro e inseminação artificial pré-fixada (Sistema BioRep) em comparação com sistemas de desmame definitivo e temporário para vacas de corte no pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, p. 590-591, 2003.

SILVEIRA, R. L. Regulação de receptores esteóides, dinâmica folicular e incremento na eficácia reprodutiva pós-parto das vacas de corte. Tese de doutorado em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

SIROIS, J; FORTUNE, J.E. Lengthening the bovine estrus cycle with low concentrations of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicle dominante. **Endocrinology**, v. 127, p. 916-925, 1990.

SOARES, A. F. C., FAGUNDES, N. S., NASCIMENTO, M. R. B. M., TAVARES, M., JACOMINI, J. O. Influência da bioestimulação sobre as características ovarianas e a taxa de prenhez em novilhas Nelore. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p. 834 - 838, 2008.

SOUZA, E.M.; MILAGRES, J.C.; M.A.; REGAZZI, A.J.; CASTRO, A.G.C. Influências genéticas e do meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos Gir leiteiro. **R. Soc. Bras. de Zootec.**, v.24, nº6, p.926-935, 1995.

SOUZA, C. A. Z.; AMARAL, F. A.; NEVES, S.; FONSECA, C. P. Aplicação de Poli-b-(hidroxibutirato-co-valerato) como eletrólitos sólidos Poliméricos biodegradáveis. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). **29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2000, p. 765.

SPRECHER, D. J., NEBEL, R. L. & WHITMAN, S. S. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transretal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. **Theriogenology**, v. 31, n. 6, p. 1165-1172, 1989.

VEYRIES, M. L., COUARRAZE, G., GEIGER, S., AGNELY, F., MASSAIS, L., KUNZLI, B., FAURISSON, F., ROUVEIX, B. Controlled release of vancomycin from Poloxamer 407 gels, **Int. J. Pharm**, 192:183-193, 1999.

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

YELICH, J.V. WETTEMANN, R.; MARSTON, T.; SPICER, L. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, Insuline and metabolites

before puberty in heifers fed to gain at two rates. **Domestic animal endocrinology**, v.13, n.4, p.325-338, 1996.

WILTBANK, J.N. et AL. Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. **Journal of Animal Science**, v.24, p. 990-994, 1965.

WINZENBURG, G.; SCHMIDT. C.; FUCHS, S.; KISSEL, T. Biodegradable polymers and their potential use in parenteral veterinary drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**. V. 56, p. 1453-1466, 2004.

WOLFE, M.W.; STUMPF, T.T.; WOLFE, P.L.; DAY, M.L.; KOCH, R.M.; KINDER, J.E. Effect of selection for growth traits on age and height at puberty in bovine females. **J. Anim. Sci.**, v.68, p. 1595-1602, 1990.

WOLFE, M. W. et al. Opioid and  $17\beta$  estradiol regulation of LH and FSH secretion during sexual maturation in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v.8, n.4, p.491-498, 1991.

WRIGHT, P.J.; MALMO, J. Pharmacological manipulation of fertility. **Applied For Animal Practitioner**, v.8, p.57-89, 1992.

ZALESKY, D.D., DAY, M.L., GARCIA-WINDER, M. et al. Influence of exposure to bulls on resumption of estrous cycles following parturition in beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 59, p. 1135-39, 1984.

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