

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**PESO, IDADE E PERFIL BIOQUÍMICO, HEMATOLÓGICO E
HORMONAL DE NOVILHAS NELORE À PUBERDADE**

Lucas Jacomini Abud
Orientador: Dr. José Robson Bezerra Sereno

GOIÂNIA
2013



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ Dissertação ☒ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Lucas Jacomini Abud** E-mail: **abudlj@hotmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☐ Sim ☒ Não

Vínculo Empregatício do autor: **Universidade Federal Rural da Amazônia** Agência de fomento: **CNPq**

País: **Brasil** UF: **Pará** CNPJ: **05.200.001/0001-01** Sigla: **UFRA**

Título: **Peso, idade e perfil bioquímico, hematológico e hormonal de novilhas Nelore à puberdade** Palavras-chave: **Bioquímica sanguínea, Bos taurus indicus, bovino de corte, leptina, precocidade sexual, progesterona**

Título em outra língua: **Weight, age and biochemical, hematological and hormonal profile of Nelore heifers at puberty**

Palavras-chave em outra língua: **Biochemical profile, beef cattle, Bos taurus indicus, leptin, progesterone, sexual precocity**

Área de concentração: **Produção Animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **12/07/2013**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **José Robson Bezerra Sereno** E-mail: **jose.sereno@embrapa.br**

Co-orientador(1): **Maria Clorinda Soares Fioravanti** E-mail: **clorinda@vet.ufg.br**

Co-orientador(2): **Emmanuel Arnhold** E-mail: **earnhold@pq.cnpq.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 19 de dezembro de 2013

Apos assinatura DIGITALIZAR para a versão eletrônica

Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

LUCAS JACOMINI ABUD

**PESO, IDADE E PERFIL BIOQUÍMICO, HEMATOLÓGICO E
HORMONAL DE NOVILHAS NELORE À PUBERDADE**

Tese apresentada para obtenção do grau de
Doutor em Ciência Animal junto à Escola de
Veterinária e Zootecnia da Universidade
Federal de Goiás.

Área de concentração:

Produção Animal

Orientador:

Dr. José Robson Bezerra Sereno – Embrapa
Cerrados - CPAC

Comitê de Orientação:

Prof^a Dr^a Maria Clorinda Soares Fioravanti
Prof. Dr. Emmanuel Arnhold

GOIÂNIA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

A165p	Abud, Lucas Jacomini. Peso, idade e perfil bioquímico, hematológico e hormonal de novilhas Nelore à puberdade [manuscrito] / Lucas Jacomini Abud. - 2013. 85 f. : figs, tabs. Orientador: Prof. Dr. José Robson Bezerra Sereno. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2013. Bibliografia. 1. Bovino de corte – Perfil bioquímico – Leptina. 2. Bovino de corte – Progesterona. 3. Bovino de corte – Precocidade sexual. I. Título. CDU: 636.291.082
-------	--

LUCAS JACOMINI ABUD

Tese defendida e aprovada em **12/07/2013** pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. José Robson Bezerra Sereno
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Helton Mattana Saturnino - UFMG



Prof. Dr. Dyomar Toledo Lopes – UFG/CAJ



Prof. Dr. Eduardo de Oliveira Melo - Embrapa



Profa. Dra. Maria Ivete de Moura



Prof. Dr. José Octavio Jacomini - UFU

***Dedico a toda minha família pelo apoio dado
durante o caminho percorrido.***

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me guiado ajudando a superar todos os obstáculos.

Aos meus pais, José Antonio Galdeano Abud e Dulcelina Jacomini Abud e ao meu irmão Vinícius Jacomini Abud que sempre estiveram ao meu lado dando forças e apoiando minhas decisões.

Aos meus avós José Abud (vô Doca, *in memoriam*), Geni Vaz Galdeano Abud, João Jacomini, Maria Aparecida Favarim Jacomini pelas lições de vida e exemplos de superação.

Aos mestres José Robson Bezerra Sereno, Maria Clorinda Soares Fioravanti e Carlos Frederico Martins pelos ensinamentos e pela amizade.

Agradeço aos grandes companheiros: Anna Carolina da Costa, Allice Rodrigues Ferreira, Aline Luciana Rodrigues, Gustavo Lage Costa, Leandro Guimarães Franco, Mayara Fernanda Maggioli, Saura Nayane de Souza e aos pós-graduandos pelo apoio nessa caminhada.

Aos funcionários e amigos da Universidade Federal de Goiás e da Embrapa Cerrados pela ajuda durante a pós-graduação.

À coordenação da Pós-graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás e à Embrapa Cerrados pela oportunidade e apoio geral.

Ao CNPq pela bolsa e financiamento do projeto desenvolvido.

A todos os amigos da Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus de Parauapebas, pelo apoio dado para a conclusão dos créditos e da tese.

A todos aqueles que me apoiaram nessa caminhada.

E finalmente, a Cátia Oliveira Guimarães Abud pelo apoio dados neste percurso para obtenção desta vitória.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer.”

Mahatma Gandhi

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA	3
2.1 Bovinocultura de corte.....	3
2.2 Puberdade.....	4
2.3 Perfil metabólico.....	7
2.4 Leptina.....	10
2.4.1 Hormônio leptina	10
2.4.2 Gene do receptor da leptina	13
3 JUSTIFICATIVA	16
4 OBJETIVOS	17
4.1 Objetivo geral	17
4.2 Objetivo específico	17
REFERÊNCIAS.....	18
CAPÍTULO 2 – PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DA GESTAÇÃO EM NOVILHAS NELORE	31
1 INTRODUÇÃO	33
2. MATERIAL E MÉTODOS	34
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	36
4. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	45
CAPÍTULO 3 – POLIMORFISMO DO EXON 20 DO GENE DO RECEPTOR DA LEPTINA E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LEPTINA EM NOVILHAS NELORE CRIADAS A PASTO	53

1 INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	56
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	58
4. CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	64
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DA GESTAÇÃO EM NOVILHAS NELORE	31
TABELA 1 – Valores medidos do perfil bioquímico e hematológico de novilhas Nelore não gestante e gestante, criadas a pasto na região de Planaltina DF.	41
TABELA 2 – Correlação entre idade, peso, puberdade, gestação e perfil bioquímico e hematológico de novilhas Nelore criadas a pasto na região de Planaltina-DF.....	43
TABELA 3 – Análise de regressão logística para a ocorrência de gestação em novilhas em relação às variáveis idade, peso e do perfil bioquímico e hematológico.....	45
CAPÍTULO 3 – POLIMORFISMO DO EXON 20 DO GENE DO RECEPTOR DA LEPTINA E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LEPTINA EM NOVILHAS NELORE CRIADAS A PASTO	53
TABELA 1 – Distribuição da ocorrência da mutação do exon 20 do gene do receptor da leptina na posição T945M e concentração de leptina (ng/ml) entre as novilhas Nelore não púberes e púberes criadas a pasto.....	63

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 – PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DA GESTAÇÃO EM NOVILHAS NELORE	31
FIGURA 1 – Peso médio das novilhas Nelore criadas a pasto durante o período experimental.....	37
FIGURA 2 – Representação gráfica dos componentes principais das características produtivas e do perfil bioquímico e hematológico das novilhas Nelore criadas a pasto na região de Planaltina, DF.	44

RESUMO

A idade a puberdade é uma característica de grande importância para pecuária de corte, por possibilitar a antecipação da atividade reprodutiva das fêmeas aumentando a produtividade do setor pecuário. A antecipação da idade a puberdade é possível devido à influência de fatores ambientais e genético, sobre esta característica. A interação da fisiológica da puberdade com esses fatores não está completamente esclarecida, dificultando a aplicação de manejos para sua redução. Para melhor compreender a fisiologia da puberdade em novilhas Nelore, estudou-se a participação do hormônio leptina, do gene do receptor da leptina e os perfis bioquímico e hematológico na ocorrência da puberdade. O trabalho foi realizado acompanhando 56 novilhas Nelore criadas a pasto durante um período de 17 meses. Durante o período experimental foram coletados amostras de sangue em intervalos de dois meses para a dosagem de leptina e caracterização dos perfis bioquímico e hematológico, e na primeira colheita coletou-se sangue para o sequenciamento do receptor da leptina. Das variáveis analisadas observou-se relação com a ocorrência da puberdade nas concentrações de proteína total, globulina, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST) e na quantificação de hemácias, hematócrito e plaquetas. No presente estudo não foi possível definir a participação dos componentes bioquímicos e hematológico com a ocorrência da puberdade, havendo a necessidade de mais estudo para melhor compreensão desta relação. Há também a necessidade de um melhor entendimento da participação do hormônio leptina com a fisiológica da puberdade, além de estudo mais detalhado do gene do receptor da leptina, buscando um marcador molecular confiável para precocidade sexual.

Palavras Chaves: Bioquímica sanguínea, *Bos taurus indicus*, bovino de corte, leptina, precocidade sexual, progesterona

ABSTRACT

The age of puberty is a feature of great importance in beef cattle for it allows the anticipation of the reproductive activity of females and increases the productivity of the livestock sector. Anticipation of the puberty is possible due to the influence of environmental and genetic factors on this feature. The interaction of pubertal physiology with these factors is not fully understood, hindering the application of managements for its reduction. To better understand the puberty physiology in heifers, we studied the involvement of the hormone leptin, leptin receptor gene and biochemical and hematological profiles in the occurrence of puberty. The study was conducted following 56 heifers raised on pasture during 17 months. Blood samples were collected at intervals of two months for biochemical characterization, hematological profiles, and to measure progesterone and leptin concentrations as well as the leptin receptor gene sequence. We observed a correlation between the occurrence of puberty and total protein, globulin, phosphorus, magnesium, alanine fosfatase (ALP), aspartate aminotranferase (AST), the number of red blood cells, hematocrit and platelets. In the present study it was not possible to define the role of biochemical and hematological components with the occurrence of puberty, thus more studies are necessary to better understand this relationship. A better understanding of the involvement of leptin in the pubertal phisiology more detailed study on leptin receptor gene, seeking a reliable molecular marker for sexual precocity, are also necessary.

Keywords: Biochemical profile, beef cattle, *Bos taurus indicus*, leptin, progesterone, sexual precocity

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira, com o maior rebanho comercial do mundo, possui a capacidade de produzir carne e leite a pasto. Produção está associado ao baixo custo da mão de obra e das áreas de pastagens permite o resultado de um produto competitivo no mercado internacional. Porém, apesar dessa alta capacidade de produção, os índices produtivos e reprodutivos dos rebanhos são baixos, necessitando ainda de conhecimentos científicos e tecnológicos regionais, para melhorar o índice zootécnico das propriedades.

Para melhorar a eficiência produtiva faz-se necessário a realização de mais pesquisas em características reprodutivas, pois segundo MONSALVES (2008) a seleção para precocidade sexual tem efeito considerável na lucratividade das propriedades rurais. Na literatura são descritos vários trabalhos relacionados à reprodução, em sua maioria sobre bovinos de origem européia. Porém ainda se conhece pouco sobre a fisiologia reprodutiva de bovinos zebuínos que representa a maior parte do rebanho de corte brasileiro.

O conhecimento da fisiologia reprodutiva de zebuínos é importante na eficiência da utilização de biotécnicas da reprodução, tais como a transferência de embriões e a inseminação artificial em tempo fixo, além de melhorar o manejo das propriedades, visando a otimização do sistema produtivo e o maior retorno econômico.

Para compreender a fisiologia reprodutiva do gado zebu e suas interações com fatores ambientais e genéticos, têm-se utilizado tecnologias como a ultrassonografia, dosagens hormonais e avaliação gênica, permitindo assim desenvolver alternativas para alcançar com eficiência a reprodução destes animais.

Dentre as descobertas relacionadas à fisiologia animal encontra-se o hormônio leptina, peptídeo produzido pelo tecido adiposo com grande potencial de influenciar a reprodução animal, uma vez que é considerado um elo entre a condição nutricional do animal e a manifestação das características reprodutivas

(WILLIAMS et al., 2002). Associado a este hormônio, também pode ser descrito a caracterização no gene de seu receptor para a identificação de polimorfismos que possam estar associados à ocorrência precoce da puberdade, podendo estes serem utilizados como marcadores moleculares na seleção para precocidade sexual.

Além dos hormônios que influenciam na fisiologia reprodutiva, vários componentes do metabolismo animal também exercem funções importantes na reprodução. Sendo assim a avaliação do perfil metabólico pode ajudar a compreender a fisiologia reprodutiva, bem como sua interação com o meio ambiente. Dentre esses metabolismos destacam-se o proteico e o energético, que estão relacionados com a disponibilidade e equilíbrio dos componentes da dieta fornecida ao animal.

2 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

2.1 Bovinocultura de corte

O rebanho bovino brasileiro é formado predominantemente por animais zebuínos (*Bos taurus indicus*) (ABEYGUNAWARDENA & DEMATAWEWA, 2004), que representa cerca de 85% do genótipo (McMANUS et al., 2002), com maior participação da raça Nelore.

Estes bovinos apresentam diferenças no potencial de crescimento entre os indivíduos, decorrentes e fundamentalmente da variabilidade genética. Portanto, para buscar melhor desempenho produtivo, há necessidade de melhorar a qualidade dos rebanhos por meio do melhoramento genético (BOLIGON et al., 2008). A busca pela precocidade tornou-se prioridade nos programas de seleção, pois com a obtenção de animais precoces a rentabilidade do sistema é favorecida, por reduzir o tempo de permanência dos animais não produtivos nas fazendas (SIQUEIRA et al., 2003).

Para a implantação de um programa de seleção é necessário a elaboração de acasalamento que produzam uma população com características desejáveis e com uma troca permanente e estável do genótipo (GARNERO et al., 2006). A seleção natural do gado zebu favorece sua tolerância ao calor, aos parasitas e habilidade em sobreviver em condições climáticas desfavoráveis, o que tornou os animais bem adaptados as condições de cerrado brasileiro (ABEYGUNAWARDENA & DEMATAWEWA, 2004).

As pressões exercidas pelo mercado e a necessidade de produção de carne bovina de boa qualidade, de forma eficiente e competitiva, tem estimulado pecuaristas e pesquisadores a buscarem alternativas de critérios de seleção, tanto para a precocidade de crescimento como para a sexual (GARNERO et al., 2001). É importante salientar que o longo período em que as fêmeas são mantidas na propriedade sem produzir bezerros eleva os custos de produção, bem como atrasa o processo de seleção genética do rebanho (RESTLE et al., 1999).

O desempenho reprodutivo de novilhas consiste em um dos principais critérios a serem incluídos na avaliação da eficiência reprodutiva de um rebanho,

quando se almeja o aumento do retorno financeiro. Dentre as características a serem selecionadas destaca-se a idade à puberdade, que é um importante evento da vida de uma fêmea por ser o início da atividade reprodutiva da mesma (MARSON et al., 2004).

No Brasil, as características utilizadas como critério de seleção para alcançar melhoria genética em bovinos de corte são principalmente as de crescimento. A seleção de características reprodutivas diretamente ligadas à precocidade e fertilidade sexual apresenta dificuldades no momento da coleta de dados devido as influências sofridas por esta característica. Diversas características reprodutivas, como idade à puberdade, idade à primeira cria, prenhez de novilhas, entre outras, tem sido utilizadas no intuito de otimizar o desempenho reprodutivo das fêmeas (SILVA et al., 2005).

A idade à puberdade em fêmeas é uma característica importante em gado de corte por reduzir o intervalo entre gerações à medida que o sistema de produção se torna mais competitivo. No entanto, são poucas as informações sobre os efeitos da raça e da heterose na idade e peso à puberdade em fêmeas de gado de corte (RESTLE et al., 1999). Sabe-se que o aumento da eficiência do setor de cria pode ser atingido pela redução na idade ao primeiro parto, sendo esta alcançada quando elevada proporção de novilhas apresenta cio ao início da estação de monta, aos 15 meses de idade (SIQUEIRA et al., 2003).

2.2 Puberdade

A puberdade tem várias definições, entre elas estão incluídas: a idade ao primeiro estro, idade à primeira ovulação e idade no qual a fêmea pode suportar a prenhez sem efeitos deletérios ao desenvolvimento da novilha (SENGER, 2005). O que melhor definiria a puberdade seria o momento caracterizado por um mecanismo esteroidal de feedback negativo e aumento na concentração de hormônio luteinizante (LH), que resulta na primeira ovulação, com formação de um corpo lúteo funcional e manutenção da concentração de progesterona acima de 1 mg/ml, seguida de um pequeno ciclo estral e o início de

um ciclo normal logo após (PERRY et al., 1991; SANTIAGO et al., 2001; NOGUEIRA, 2004).

NAKADA et al. (2002) descreveram que a partir de um a três meses de idade, bezerras tendem a ter a maturação do sistema hipotalâmico-hipofisiário-gonadal, portanto adquirem a capacidade endócrina de manifestar estro. Entretanto, uma grande sensibilidade ao efeito negativo do estradiol não permite que o estro ocorra (SCHILLO, 2003). Com a aproximação da puberdade ocorre redução ao efeito negativo do estradiol com aumento na secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) que desencadeia um acréscimo na liberação de LH, estabelecendo a atividade gonadal (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007). Estudos indicaram que ovócitos de novilhas *Bos taurus indicus* pré-púberes com nove meses de idade têm a mesma competência de desenvolvimento no cultivo in vitro quando comparados com ovócitos de vacas, competência essa, alcançada muitos meses antes do início da puberdade (CAMARGO et al., 2005)

Durante muito tempo os termos precocidade, puberdade e maturidade sexual têm sido utilizadas como sinônimos. Em seu trabalho, LANNA & DELGADO (2000) distinguiram esses termos relacionando a precocidade sexual à velocidade com que o animal atinge uma proporção de seu peso adulto; puberdade é a idade em que a fêmea expressa sua capacidade de reprodução e a maturidade, ao ápice de seu potencial reprodutivo. BYERLEY et al. (1987) ressaltaram que a maturidade sexual é um fenômeno que se continua após a puberdade e desta forma, MORAN et al. (1989) evidenciaram que a ocorrência da puberdade e a maturidade sexual não são sinônimos, uma vez que, após a puberdade é necessário algum tempo até que o sistema reprodutivo esteja pronto para a concepção.

A fertilidade funcional, fisiológica e comportamental foi amplamente estudada por ROMANO (1997) que caracterizou a maturidade sexual como a ocorrência de três ciclos estrais consecutivos e completos, em intervalos regulares, acrescidos de sinais de comportamento de estro. Assim, espera-se que a fêmea ao ser introduzida em sua primeira estação reprodutiva, já esteja ciclando, concordando com BYERLEY et al. (1987) ao afirmarem que as novilhas são maduras ao terceiro estro e apresentam fertilidade superior quando comparada àquela do estro puberal. STAIGMILLER et al. (1993) afirmaram ainda

que, o desenvolvimento uterino subsequente ao estro puberal não é adequado para a manutenção da gestação em algumas novilhas, e que a maturação uterina é um processo que também continua após a puberdade.

A idade à puberdade é o início da atividade reprodutiva e sua ocorrência precoce possibilita a antecipação do retorno econômico das fêmeas em recria, porém esta característica é dependente de vários fatores como nutrição, genótipo, peso corporal, manipulação hormonal e bioestimulação (GARVERICK & SMITH, 1993; MENEGAZ et al., 2008; FIOLE et al., 2010; RODRIGUES et al., 2013). Pesquisas têm demonstrado que a idade a puberdade está correlacionada positivamente com o peso dos animais, portanto o manejo nutricional deve ser focado em fatores que a estimule, pois essa é uma característica produtiva importante (SCHILLO et al., 1983; BERGFELD et al., 1994). A puberdade em novilhas *Bos taurus taurus* quando alimentadas com dieta com grande quantidade de concentrado pode ocorrer entre os três e quatro meses de idade. O status nutricional é mostrado como um importante regulador dos mecanismos que conduzem à puberdade em novilhas (GASSER et al., 2006).

Os efeitos da nutrição com relação ao início da atividade cíclica foram amplamente revisados por SCHILLO et al. (1992), demonstrando que esses são importantes, particularmente em novilhas. O ganho de peso adequado é necessário para que novilhas iniciem essa atividade e continuem a apresentar ciclos estrais normais. A subnutrição, tanto quanto a superalimentação, trazem consequências para o estabelecimento da puberdade em novilhas, sendo que a subnutrição das fêmeas em fase de crescimento determina retardo da puberdade e baixas taxas de gestação (PATTERSON et al., 1992). O efeito da disponibilidade de alimentos sobre características reprodutivas também foi observado por WETTERE et al. (2011) em que os animais com menor disponibilidade de nutrientes tiveram um menor desenvolvimento dos folículos e uma menor competência de maturação in vitro.

O peso vivo das novilhas é um elemento que afeta a sequência de eventos que desencadeiam a puberdade (PATTERSON et al., 1992). É sabido que novilhas de corte podem atingir a puberdade com cerca de 60% a 85% do peso adulto (ARIJE & WILTBANK, 1971; MONTANHOLI et al., 2004; FRENEAU et al., 2008). Variações são justificadas pelo manejo alimentar e variação genética

de cada rebanho. Propriedades que trabalham com um manejo nutricional que proporciona maior ganho de peso tendem a antecipar a vida reprodutiva das novilhas, pois uma fêmea com desenvolvimento inicial maior tende a atingir a idade reprodutiva precocemente (MENEGAZ et al., 2008).

MONTANHOLI et al. (2004; 2008) trabalhando com ganho de peso de novilhas na fase de recria observaram que os animais com maiores taxas de ganho de peso possuíam melhor desenvolvimento do trato reprodutivo, o que sugere melhores chances de se tornarem gestantes durante o acasalamento. MONTEIRO et al. (2013) observaram em seu trabalho que novilhas com maiores pesos à desmama e no período pós-desmama entram mais cedo em puberdade, portanto manejos que antecipem este evento fisiológico favorecem a manifestação precoce do comportamento sexual. A análise do desenvolvimento de novilhas é uma maneira de mostrar a importância do peso e da seleção de animais de maior crescimento no início do acasalamento para que sejam alcançados índices de gestação que aumentam a produtividade, melhorando a eficiência do sistema (BARCELLOS et al., 2006).

GASSER et al. (2006) observaram que manejos alimentares que proporcionam melhor desenvolvimento estão associados ao aumento dos pulsos de LH e antecipação da puberdade, porém estes descrevem que a interação fisiológica entre nutrição e puberdade não está esclarecida. Portanto o conhecimento das modificações endocrinofisiológicas que ocorrem antes e após a puberdade e os fatores que as influenciam, tem sido alvo de estudos ao longo do tempo (GONZALEZ-PADILHA, 1975; DAY et al., 1987; NOGUEIRA, 2004; CARDOSO & NOGUEIRA, 2007; WILLIAMS et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2010; HAUSMAN et al., 2012).

2.3 Perfil metabólico

Uma das maneiras utilizadas para avaliação do *status* nutricional de rebanhos bovinos tem sido o escore corporal, que trata de uma avaliação visual da cobertura muscular e deposição de gordura subcutânea nos animais (STRADIOTTI JÚNIOR & COSÉR, 2012). Estudos têm utilizado como ferramenta

auxiliar a avaliação do perfil metabólico em ruminantes por meio de análise dos componentes bioquímicos do sangue, que refletem de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes nos tecidos dos animais (GONZÁLEZ et al., 2000).

A utilização do perfil metabólico em animais de produção atua como um método auxiliar na avaliação de rebanhos com diferentes índices produtivos e reprodutivos, representando também uma importante ferramenta auxiliar no diagnóstico de doenças metabólicas (PEIXOTO, 2004).

Os componentes sanguíneos que podem ser utilizados na determinação do perfil metabólico são aqueles que representam as principais vias metabólicas do organismo. O metabolismo energético é representado pelos teores de glicose, colesterol e betahidroxibutirato. O metabolismo proteico é representado pelas concentrações de uréia, hemoglobina, globulinas, albumina e proteínas totais e o perfil mineral pode ser representado pelo cálcio, fósforo inorgânico, magnésio, sódio e potássio (WITTWER & CONTRERAS, 1980; DIRKSEN & BREITNER, 1993). Além dos estudos destes componentes sanguíneos pode-se acrescentar indicadores do funcionamento hepático, tais como as enzimas AST (aspartato aminotransferase), GGT (gama glutamiltransferase) e GLDH (glutamato desidrogenase) (GONZALEZ, 1997).

Na avaliação do metabolismo energético a glicose é um dos principais componentes de escolha, pois em condições de campo, pode ser observado hipoglicemia quando ocorre um balanço de energia severamente negativo (PAYNE & PAYNE, 1987). Este componente possui relações com a fertilidade de rebanhos bovinos e o aumento da glicemia promove melhores índices de fertilidade (DOWNIE & GELMAN, 1976).

Os baixos teores de energia na dieta levam a uma insuficiente ingestão energética resultando em baixo desempenho reprodutivo, atraso na idade à puberdade, atraso no intervalo da primeira ovulação e cio pós-parto, além de redução nas taxas de concepção e de prenhez (PEIXOTO & OSÓRIO, 2007). Segundo VAZ et al. (2012), a suplementação energética a campo durante o período reprodutivo melhora linearmente o desenvolvimento e o desempenho reprodutivo de novilhas de corte elevado as taxa de gestação na estação de monta.

Variações negativas dos componentes do metabolismo proteico podem estar relacionadas com deficiência proteica na alimentação e dietas com menos de 10% de proteína que podem resultar em déficit (KANEKO et al., 1997). STRADIOTTI JÚNIOR & COSÉR (2012) sugerem que a síntese proteica está diretamente relacionada com a condição nutricional do animal, sendo que a redução das proteínas totais no plasma pode estar ligada as falhas hepáticas, transtornos renais e intestinais, hemorragias ou deficiência na nutrição. Associado as alterações nas concentrações de proteína total, também utilizam-se as concentrações de uréia e albumina para avaliar o metabolismo proteico dos animais. Sendo a uréia um indicador sensível e imediato da ingestão de proteínas, ao contrário da albumina que é um indicador em longo prazo do status proteico.

A nutrição proteica possui um importante papel no desempenho de bovinos de corte e a baixa disponibilidade de proteína na dieta é um dos principais responsáveis pelo baixo desempenho produtivo e reprodutivo desses animais (PEIXOTO & OSÓRIO, 2007). FIGUEIREDO et al. (2008) avaliando diferentes suplementos proteico para novilhas, concluíram que suplementações que proporcionam um rápido desenvolvimento influênciam positivamente no desempenho reprodutivo de novilhas.

A análise dos componentes do metabolismo mineral no organismo é importante na interpretação do balanço dos minerais para o organismo animal. (GONZÁLEZ, 2000). Segundo MOREIRA et al. (2011) e SIGNORETTI et al. (2013) a suplementação mineral adequada e uma boa disponibilidade destes nutrientes, associado a uma melhor qualidade de pastagens, proporcionam bom desenvolvimento de novilhas e conseqüentemente um melhor desempenho produtivo e reprodutivo dos animais. Vale lembrar que, assim como a deficiência energética e proteica, o desbalanço dos minerais para os bovinos pode afetar negativamente a fertilidade, o ganho de peso, a produção de leite e a saúde dos mesmos (FICK et al., 1978).

O estudo do perfil metabólico pode colaborar no entendimento do balanço nutricional de um rebanho. Em situações de desequilíbrio o organismo animal responde com alterações nas concentrações dos componentes sanguíneos (CONTRERAS, 2000). O perfil metabólico não é um exame

nutricional, uma vez que os metabólitos não são indicadores da condição nutricional dos indivíduos. Assinalam quando foi alterada a capacidade de homeostase sendo, portanto, indicador do balanço metabólico nos animais. Por isto, o perfil metabólico constitui um complemento ao nutricionista para orientá-lo nas suas decisões (WITTWER, 2000).

Ao avaliar as concentrações sanguíneas do perfil metabólico há necessidade de considerar as características do rebanho, a localização geográfica e o estado fisiológico dos animais, uma vez que estes componentes sofrem variações decorrentes da fisiologia e do manejo ao qual o animal está submetido (SATRADIOTTI JÚNIOR & COSÉR, 2012). A adequada interpretação dos valores encontrados no perfil metabólico sanguíneo depende do conhecimento da fisiologia e bioquímica animal, além da fonte e a função de cada um dos metabólitos avaliados. Os métodos utilizados na sua determinação, também, são de suma importância na definição do perfil metabólico (WITTWER, 2000).

2.4 Leptina

2.4.1 Hormônio leptina

A leptina é o hormônio produto do gene da obesidade, que atua no sistema nervoso central e nos tecidos periféricos modulando o apetite e o metabolismo energético (HOUSEKNECHT et al., 1998). A caracterização do gene da leptina foi realizada em ratos e em humanos, recebendo a denominação de gene da obesidade ou da leptina (ZHANG et al., 1994). Este gene também foi caracterizado em outras espécies como suíno (RAMSAY et al., 1998), frango (TAOUI et al., 1998) e bovino (JI et al., 1998). A sequência de aminoácidos do gene da leptina é altamente conservada, mantendo de 84 a 97% de homologia entre camundongos, ratos, humanos, e bovinos. Este gene é expresso principalmente pelo tecido adiposo (ZHANG et al., 1994).

Em ruminantes, como em outras espécies, a leptina é secretada por adipócitos (JI et al., 1998), tornando-se um dos melhores marcadores fisiológicos da condição corporal, ingestão alimentar e gasto energético (HOUSEKNECHT et

al., 1998). As concentrações de leptina circulante podem variar de acordo com a concentração e distribuição da gordura, portanto o aumento deste tecido resulta numa maior secreção desse hormônio (DELAUVAUD et al., 2002).

A descoberta deste hormônio se deu a partir de estudos com camundongos obesos, em que camundongos pertencentes às linhagens *ob/ob* e *db/db* são três vezes mais pesados do que as linhagens selvagens (COLEMAN & HUMMEL, 1973). Numa série de estudos entre estas duas linhagens de camundongos, verificou-se que a linhagem *ob/ob* foi incapaz de produzir um fator circulante presente no tecido adiposo da linhagem *db/db*. O achado mais interessante deste estudo foi a constatação de que a linhagem *ob/ob* perdeu peso quando conectou-se o sistema circulatório com o da linhagem *db/db*, demonstrando que seu cérebro respondia a este fator (COLEMAN, 1973).

A produção de leptina recombinante e administração em camundongos da linhagem *ob/ob* que levou à perda de peso e redução da ingestão calórica (CAMPFIELD et al., 1995). Além da diminuição da ingestão de alimentos e perda de peso corporal, a leptina pode ter influências positivas sobre o sistema reprodutivo (PORETSKY, 1991), pois o fornecimento de leptina exógena atuou nos ovários aumentando o seu peso e do número de folículos em ratos (BARASH et al., 1996).

A leptina tem sido relacionada com a interação entre nutrição e reprodução (BOLAND et al., 2001), sua ação neuroendócrina tem efeito estimulatório sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, possuindo um papel importante na sinalização da condição nutricional para o eixo central da reprodução (ZIEBA et al., 2004). Além de agir localmente, regulando o tamanho dos folículos e qualidade dos ovócitos (BOLAND et al., 2001).

A leptina age centralmente no eixo hipotálamo-hipófise influenciando a secreção de GnRH ação mediada via neuropeptídeo Y (NPY). Esse peptídeo possui um padrão elevado de expressão no hipotálamo e na hipófise anterior de bovinos e em áreas do cérebro relacionadas com a regulação do consumo alimentar e o balanço energético. O NPY é o mediador da ação da leptina no hipotálamo sobre a regulação do LH, possuindo efeito inibitório, dependente da condição nutricional. Em ruminantes e monogástricos, sobre restrição nutricional, ocorre à redução da ação da leptina e aumento a atuação do NPY, resultando em

supressão de liberação de LH. Portanto o aumento das concentrações de leptina na circulação reduz a síntese e secreção de NPY, o que permite o aumento de secreção hipotalâmica de GnRH e consequentemente de LH (WILLIAMS et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2010).

O possível mecanismo de regulação pela leptina envolve inter-receptores de leptina nos neurônios, que provocam liberação de alfa-endorfinas, as quais têm impacto positivo sobre os neurônios secretores de GnRH, além de sensibilizar regiões do cérebro, sensíveis a glicose, as quais influenciam a secreção de GnRH (CUNNINGHAM et al., 1999).

Atualmente é descrito que a ação da leptina sobre a secreção de LH é regulada pela atuação da kisspeptin diretamente nos neurônios hipotalâmicos secretores de GnRH, sendo portando um mediador dos efeitos da leptina sobre a secreção de LH. A restrição calórica e jejum reduz a expressão de mRNA hipotalâmico kisspeptin, sendo que o tratamento com este hormônio resulta no reestabelecimento da secreção normal LH (HAUSMAN et al., 2012). Segundo HASHIZUME et al. (2010) a aplicação de Kisspeptídeo resulta no aumento da secreção de LH, fato este também descrito por CARATY et al. (2012) ao citar a atuação do kisspeptídeo decorrente ao estímulo a secreção de GnRH pelo hipotálamo, portanto em condições adequadas de formação de reservas energéticas e atividade secretória de leptina pelos adipócitos, há um aumento na secreção de kisspeptídeo e consequentemente de LH (HAUSMAN et al., 2012).

Observações feitas por CUNNINGHAM et al. (1999), sugeriram que a leptina representa um sinal metabólico para o sistema reprodutivo neuro-endócrino e que, sob condições inadequadas de reserva energética, baixas concentrações de leptina atuam como uma “chave metabólica” a fim de inibir a atividade reprodutiva em ambos os sexos. Em restrições alimentares de 2-3 dias ocorre redução nas concentrações de leptina, simultaneamente com reduções da frequência de pulsos de LH (AMSTALDEM et al., 2003).

Além da atuação endócrino fisiológica da reprodução como sinalizador da condição nutricional do animal é descrito a interação hormonal da leptina com o início da puberdade (ZIEBA et al., 2004), em que é observado o aumento das concentrações de leptina circulante durante o desenvolvimento puberal e ativação do eixo reprodutivo, permitindo que ocorrência da puberdade (HAUSMAN et al.,

2012). Em ratos tem sido observado que os níveis de leptina no plasma aumentam com a aproximação da puberdade e administração central de leptina nestes animais, mesmo com restrições dietéticas, é capaz de induzir a puberdade, o que indica que a leptina possa ser um sinal metabólico para o início da puberdade (QUINTERO & RUÍZ CORTEZ, 2008).

A relação da leptina com a puberdade de novilhas mestiças de raças leiteiras foi verificada por GARCIA et al. (2002) em um experimento no qual tanto a leptina circulante quanto a expressão do gene da leptina aumentaram significativamente com a aproximação da puberdade, embora os valores observados para estas duas variáveis não tenham sido correlacionados. Ainda nesse estudo, aumentos no peso vivo corporal e na concentração de fator semelhante a insulina I (IGF-I) no soro dessas fêmeas foram associados com o aumento das concentrações de leptina no soro e da expressão gênica.

Estudos em rebanhos bovinos têm demonstrado que a expressão gênica e a concentração da leptina circulante são afetadas pelo fluxo de nutrientes e associadas com alterações nas concentrações séricas de insulina, de IGF-I e de LH em novilhas na fase de pré-puberal (AMSTALDEN et al., 2000). Além disso, a administração de leptina recombinante de ovino estimula significativamente a secreção de insulina pelo pâncreas e de LH pela glândula pituitária de vacas ovariectomizadas e em jejum por 60 horas (AMSTALDEN et al., 2002).

Dentro de certos limites, a idade à puberdade pode ser afetada pela ingestão de energia dietética, pela taxa de crescimento e pela adiposidade. A restrição moderada de energia da dieta e o crescimento restrito atrasam a puberdade, principalmente, inibindo a frequências de pulsos de LH, que ocorre, em parte, devido à elevada sensibilidade ao efeito negativo do estradiol e à falta de um sinal de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (WILLIAMS et al., 2002).

2.4.2 Gene do receptor da leptina

A ação da leptina no sistema nervoso central ocorre por receptores nas regiões hipotalâmicas envolvidas na regulação do comportamento alimentar,

reprodução e crescimento, onde estão co-expressos com neuropeptídeos reguladores da expressão de leptina, tais como o NPY e POMC (ELMQUIST et al., 1998). Também foram identificados receptores nas células gonadotrópicas da hipófise anterior (JIN et al., 2000), células da granulosa, da teca, e células intersticiais do ovário (KARLSSON et al., 1997) e endométrio (KITAWAKI et al., 2000).

O receptor da leptina é responsável pela ação da leptina, sendo uma proteína que apresenta seis diferentes isoformas nos tecidos dos animais (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re, Ob-Rf) que são encontradas em diferentes tecidos animais, como cérebro, tecido adiposo, placenta e gônadas (TARTAGLIA et al., 1997), portanto alterações no gene do receptor da leptina pode resultar na incapacidade deste receptor em camundongos (SOARES & GUIMARÃES, 2001). O gene deste receptor foi mapeado em bovinos, o qual foi descrito no cromossomo 3 com 20 exons (PFISTER-GENSKOW et al., 1997) possuindo uma homogenia de 84 e 78% com as sequências de humanos e camundongos, respectivamente (TARTAGLIA et al., 1997; CHEN et al., 1996).

Os receptores de membrana do hormônio leptina desempenham função primordial para desencadear estímulos celulares na presença do hormônio específico, caso estes receptores apresentem alguma alteração, o animal pode não responder a ação hormonal, comprometendo a função fisiológica do mesmo. A identificação de polimorfismos associados ao gene do receptor da leptina torna-se importante, pois ao estudar a dinâmica hormonal, deve-se ater a interação do hormônio com os seus receptores nos tecidos alvos (KOMISAREK & DORYNEK, 2006).

O interesse por este gene ocorre devido às interações de polimorfismos neste receptor associado a melhores índices produtivos e reprodutivos, bem como alterações fisiológicas (LIEFERS et al., 2004; ALMEIDA et al., 2008; PINTO et al., 2011; NASCIEMNTO et al., 2012). KOMISAREK & DORYNEK (2006) descrevem a ocorrência de polimorfismo no receptor da leptina associado a alterações da composição química do leite em bovinos da raça Jersey, que resultou no aumento de componentes como gordura e proteína. Portanto, o estudo do gene do receptor da leptina busca a identificação de

marcadores moleculares que possam ser utilizados no melhoramento genético dos animais de produção (LIEFFRES et al., 2004).

Os marcadores moleculares são ferramentas da biotecnologia, que proporcionam uma melhoria na identificação e seleção de animais de desempenho superior. Estes marcadores são originados de variações no código do material genético dos indivíduos segregado pelas gerações. A aplicação desta tecnologia permite mudanças genéticas em um ritmo cada vez mais acelerado dentro das populações, uma vez que permite seleção de animais que tenham e transmitem características desejáveis a uma população. Portanto a seleção por marcadores moleculares permite a obtenção de características fenotípicas e genotípicas que levem ao aumento da quantidade e da qualidade do produto (GOES et al., 2012).

PFEIFER et al. (2008) descreveram a associação de polimorfismos como possíveis marcadores moleculares, ao relacioná-los com melhor desempenho reprodutivo como melhoria nos resultados dos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, redução do intervalo entre partos, melhoria da eficiência reprodutiva e redução da idade a puberdade. Estas observações demonstram a importância da seleção assistida por marcadores moleculares no melhoramento em animais de produção. Portanto há necessidade de estudos e identificação de polimorfismo nos genes que possam ser utilizados como marcadores moleculares, facilitando o processo de seleção (SILVA et al., 2012).

3 JUSTIFICATIVA

A cada ano a pecuária brasileira vem sofrendo modificações, passando de um sistema extrativista para um modelo tecnificado, tornando-se uma atividade atraente. Toda essa evolução é resultado de estudos para o aprimoramento de novas técnicas de produção, dentre eles destacam-se os estudos sobre a fisiologia da puberdade. A idade à puberdade é uma característica que está relacionada com a melhoria da eficiência do sistema produtivo, pois reduz o tempo de permanência das novilhas sem a produção de bezerros na propriedade. Na literatura estão disponíveis inúmeros estudos sobre fisiologia da puberdade, porém a maioria aborda as raças européias. Para raças zebuínas existem poucos relatos, especialmente em condições tropicais. Dentre os estudos que ainda fazem-se necessários destaca-se a interação dos hormônios, que atuam no início da puberdade, com outros hormônios como a leptina e com componentes sanguíneos, que estão direta ou indiretamente agindo na manifestação desta fase reprodutiva. A compreensão desta interação pode auxiliar na identificação de técnicas de manejos que objetivam a redução na idade das fêmeas à puberdade, sem causar prejuízos ao desenvolvimento do animal e, conseqüentemente, melhorando os índices produtivos.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Objetivou-se com este estudo avaliar o peso, a idade, o perfil bioquímico, hematológico e hormonal, bem como caracterizar o receptor da leptina em novilhas Nelore criadas a pasto.

4.2 Objetivo específico

- Caracterizar a idade e o peso aproximado à puberdade;
- Caracterizar a interação do hormônio leptina com a ocorrência da puberdade;
- Identificar um marcador metabólico associado a puberdade;
- Identificar polimorfismos no receptor da leptina associado à ocorrência precoce da puberdade.

REFERÊNCIAS

1. ABEYGUNAWARDENA, H.; DEMATAWEWA, C. M. B. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82-83, p. 373-387, 2004.
2. ALMEIDA, S. E. M.; SANTOS, L. B. S.; PASSOS, D. T.; CORBELLINI, Â. O.; LOPES, B. M. T.; KIRST, C.; TERRA, G.; NEVES, J. P.; GONÇALVES, P. B. D.; MORAES, J. C. F.; WEIMER, T. A. Genetic polymorphisms at leptin receptor gene in three beef cattle breeds. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.31, n.3, p.680-685, 2008.
3. AMSTALDEN, M.; ZIEBA, D. A.; EDWARDS, J. F.; HARMS, P. G.; WELSH JR., T. H.; STANKO, R. L.; WILLIAMS, G. L. Leptin acts at the bovine adenohypophysis to enhance basal and gonadotropin-releasing hormone-mediated release of luteinizing hormone: differential effects are dependent upon nutritional history. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 69, p. 1539–1544, 2003.
4. AMSTALDEN, M; GARCIA, M. R.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 66, p. 1555-1561, 2002.
5. AMSTALDEN, M; GARCIA, M. R.; WILLIAMS, R. L.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin like-growth factor I. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 63, p.127-33, 2000.
6. ARIJE, G. F.; WILTBANK, J. N. Age and weight at puberty in Hereford heifers. **Journal Animal Science**, Savoy, v.33, p.401-406, 1971.

7. BARASH, I. A.; CHEUNG, C. C.; WEIGLE, D. S.; REN, H.; KABIGTING, . E. B.; KUIJPER, J. L.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. **Endocrinology**, Baltimore, v.137, 0.3144–3147, 1996.
8. BARCELLOS, J. O. J.; SILVA, M. D.; PRATES, E. R.; COSTA, E. C. Taxas de prenhez em novilhas de corte acasaladas aos 18 e 24 meses de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 6, p. 1168-1173, 2006.
9. BERGFELD, E. G.; KOJIMA, F. N.; CUPP, A. S.; WEHRMAN, M. E.; PETERS, K. E.; GARCIA-WINDER, M.; KINDER, J. E. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 51, p. 1051-1057, 1994.
10. BOLAND, M. P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, oocyte and embryo development. **Theriogenology**, Stoneham, v. 55, n. 6, p. 1323-1340, 2001.
11. BOLIGON, A. A.; VOZZI, P. A.; NOMELINI, J.; RORATO, P. R. N.; BEZERRA, L. A. F.; LÔBO, R. B. Parâmetros genéticos para idade ao primeiro parto estimados por diferentes modelos para rebanhos da raça Nelore. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.432-436, 2008.
12. BYERLEY, D. J.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J. G.; SHORT, R. E. Pregnancy rates of beef heifers bred either on pubertal or third estrus. **Journal Animal Science**, Savoy, v.65, p.645-650, 1987.
13. CAMARGO, L. S. A.; VIANA, J. H. M.; SÁ, W. F.; FERREIRA, A. M.; VALE FILHO, V. R. Developmental competence of oocytes from prepubertal *Bos indicus* crossed cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 85, p.53-59, 2005.
14. CAMPFIELD, L. A.; SMITH, F. J.; GUISEZ, Y.; DEVOS, R.; BURN, P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, Washington, v.269, p.546-549, 1995.

15. CARATY, A.; DECOURT, C.; BRIANT, C.; BELTRAMO, M. Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals. **Domestic Animal Endocrinology**, Soteneham, v.43, p.95–102, 2012.
16. CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v.10, n.1, p.59-67, 2007.
17. CHEN, H.; CHARLAT, O.; TARTAGLIA, L. A.; WOOLF, E.A.; WENG, X.; ELLIS, S. J.; LAKEY, N. D.; CULPEPPER, J.; MOORE, K. J.; BREITBART, R. E. DUYK, G. M.; TEPPER, R. I.; MORGENSTERN, J. P. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. **Cell**, Cambridge, v.84, p.491-495, 1996.
18. COLEMAN, D. L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. **Diabetologia**, New York, v.9, p.294-298, 1973.
19. COLEMAN, D. L.; HUMMEL, K. P. The influence of genetic background on the expression of the obese (Ob) gene in the mouse. **Diabetologia**, New York, v.9, p.287-293, 1973.
20. CONTRERAS, P. A. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F. H. D. BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H. RIBEIRO, L. A. O. (Eds.). **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.23-30.
21. CUNNINGHAM, M. J.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 60, p. 216-222, 1999.
22. DAY, M. L. IMAKAWA, K.; WOLFE, P. L.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamus-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction**, Madison, v.37, p.1054-1065, 1987.

23. DELAVALD, C.; FERLAY, A.; FAULCONNIER, Y.; BOCQUIER, F.; KANN, G.; CHILLIARD, Y. Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 80, p. 1317–1328, 2002.
24. DIRKSEN, G.; BREITNER, W. New quick-test for semi quantitative determinations of beta-hydroxybutyric acid in bovine milk. **Journal Veterinary Medical Animal Physiology Pathology Clinical Medical**, v. 40, p. 779-784, 1993.
25. DOWNIE, J. G.; GELMAN, A. L. The relationship between changes in body weight, plasma glucose and fertility in beef cows. **Veterinary Record**, London, v. 99, p. 210-212, 1976.
26. ELMQUIST, J.K.; BJORBAEK, C.; AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. Distributions of leptin receptor isoforms in the rat brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 395, p. 535–547, 1998.
27. FICK, K. R.; McDOWELL, L. R.; HOUSER, R. H. Current status of mineral research in Latin América. In: LATIN AMERICAN SYMPOSIUM ON MINERAL NUTRITION RESEARCH WITH GRAZING RUMINANTS, 1978, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University of Flórida, 1978. p.149-162.
28. FIGUEIREDO, D. M.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; SOUZA, M. G.; COUTO, V. R. M.; SALES, M. F. L. Estratégias de suplementação para antecipação da idade à puberdade para novilhas de corte em pastagem tropical. **Acta Scientiarum Animal Science**. Maringá, v. 30, n. 4, p. 415-423, 2008.
29. FIOL, C.; QUINTANSB, G.; UNGERFELDC, R. Response to biostimulation in peri-puberal beef heifers: influence of male-female proximity and heifer's initial body weight. **Theriogenology**, Stoneham, v.74, p.569–575, 2010.
30. FRENEAU, G. E.; SILVA, J. C. C.; BORJAS, A. L. R.; AMORIM, C. Estudo de medidas corporais, peso vivo e condição corporal de fêmeas de raças Nelore *Bos*

taurus indicus ao longo de doze meses. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 76-85, 2008.

31. GARCIA, M. R.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; NIZIELSKI, S. E.; WILLIAMS, G. L. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 80, p. 2158-2167, 2002.

32. GARNERO, A. del V.; LÔBO, R. B.; BEZERRA, L. A. F.; OLIVEIRA, H. N. Comparação entre alguns critérios de seleção para crescimento da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 714-718, 2001.

33. GARNERO, A. V.; MARCONDES, C. R.; GUNSKI, R. J.; OLIVEIRA, H. N.; LÔBO, R. B. Genetic trends in the expected progeny difference of the asymptotic weight of Nelore females. **Genetic and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 4, p. 648-652, 2006.

34. GARVERICK, H. A.; SMITH, M. Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. **Veterinary Clinical North America**, Fort Collins, v.9, p.223-246, 1993.

35. GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; MUSSARD, M. L.; FLUHARTY, F. L.; KINDER, J. E.; DAY, M. L. Induction of precocious puberty in heifers I: Enhanced secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.84, p.318-3122, 2006.

36. GOES, P. R. N.; AGOSTINI JÚNIOR, R.; SANTOS, J. M. G. Disponibilidade, usos e limitações dos marcadores moleculares em espécies de animais de produção. **Iniciação Científica CESUMAR**, Maringá, v. 14, n. 1, p. 5-16, 2012.

37. GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D. BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H. RIBEIRO, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

38. GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade Veterinária UFRGS**, v. 25, n. 02, p. 13-33, 1997.
39. GONZÁLEZ, F. H. D., CONCEIÇÃO, T. R., SIQUIERA, A. J. S., LA ROSA, V. L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 20, n. 117, p. 59-62, 2000.
40. GONZALEZ-PADILHA, E.; WILTBANK, J. N.; NISWENDER, G. D. Puberty in beef heifers. I. The interrelationship between pituitary, hypothalamic, and ovarian hormones. **Journal Animal. Science**, Savoy, v. 40, p. 1091-1104, 1975.
41. HASHIZUME, T.; SAITO, H.; SAWADA, T.; YAEGASHI, T.; AHMED EZZAT, A.; SAWAI, K.; YAMASHITA, T. Characteristics of stimulation of gonadotropin secretion by kisspeptin-10 in female goats. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.118, p.37–41, 2010.
42. HAUSMAN, G. J.; BARB, C. R.; LENTS, C. A. Leptin and reproductive function. **Biochimie**, Paris, v.94, p.2075-2081, 2012.
43. HOUSEKNECHT, K. L.; BAILE, C. A.; MATTERI, R. L.; SPURLOCK, M. C. The Biology of leptin: A review, **Journal of Animal Science**, Savoy, v.76, p.1405-1420, 1998.
44. JI, S.; WILLIS, G. M.; SCOTT, R. R.; SPURLOCK, M. E. Partial cloning and expression of bovine leptin gene. **Animal Biotechnology**, New York, v.9, p.1-14, 1998.
45. JIN, L.; ZHANG, S.; BURGUERA, B. G.; COUCE, M. E.; OSAMURA, R. Y.; KULIG, E.; LLOYD, R. V. Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. **Endocrinology**, Baltimore, v. 141, p. 333–339, 2000.
46. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of domestic animals**. San Diego, Academic Press, 1997.

47. KARLSSON, C.; LINDELL, K.; SVENSSON, E.; BERGH, C.; LIND, P.; BILLIG, H.; CARLSSON, L. M. S.; CARLSSON, B. R. N. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Stanford, v. 82, p. 4144–4148, 1997.
48. KITAWAKI, J.; KOSHIBA, H.; ISHIHARA, H.; KUSUKI, I.; TSUKAMOTO, K.; HONJO, H. Expression of leptin receptor in human endometrium and fluctuation during the menstrual cycle. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Stanford, v. 85, p. 1946–1950, 2000.
49. KOMISAREK, J.; DORYNEK, Z. The relationship between the T945M single nucleotide polymorphism in the leptin receptor gene (LEPR) and milk production traits in Jersey cows. **Animal Science**, PenicuiK, v.24, p. 271-277, 2006.
50. LANNA, D. P.; DELGADO, E. F. Eficiência biológica e econômica de bovinos de corte. In: CONVENÇÃO NACIONAL DA RAÇA CANCHIM, 4., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: EMBRAPA – CPPSE, ABCCAN, 2000. p.14-39.
51. LIEFERS, S. C.; VEERKAMP, R. F.; TE PAS, M. F. W.; DELAVALD, C.; CHILLIARD, Y.; VAN DER LENDE, T. A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. **Animal Genetics**, v.35, p.138–141, 2004.
52. MARSON, E. P.; GUIMARÃES, J. D.; MIRANDA NETO, T. Puberdade e maturidade sexual em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 28, n. 1, p. 3-12, 2004.
53. McMANUS, C.; SAUERESSIG, M. G.; FALCÃO, R. A.; SERRANO, G.; MARCELINO, K. R. A.; PALUDO, G. R. Componentes reprodutivos e produtivos no rebanho de corte da Embrapa Cerrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 648-657, 2002.
54. MENEGAZ, A. L.; LOBATO, J. F. P.; PEREIRA, A. C. G. Influência do manejo alimentar no ganho de peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.10, p.1844-1852, 2008.

55. MONSALVES, F. M. **Valor econômico e impacto da seleção para precocidade reprodutiva de fêmeas na raça Nelore**, 2008. 39f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
56. 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**, Brasília, v.39, n.12, p.1253-1259, 2004.
57. MONTANHOLI, Y. R.; BARCELLOS, J. O. J.; COSTA, E. C. Variação nas medidas corporais e desenvolvimento do trato reprodutivo de novilhas de corte recriadas para o acasalamento aos 18 meses de idade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.1, p.185-190, 2008.
58. MORAN, C.; QUIRKE, S. J.; ROCHE, J. F. Puberty in heifers: a review. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.18, p.167-182, 1989.
59. MOREIRA, P. S. A.; BERBER, R. C. A.; LOURENÇO, F. J.; PINA, D. S.; ROSA, J. R. P.; MOREIRA, C. D. A. Atividade reprodutiva e desempenho produtivo de novilhas nelore taurino submetidas a suplementação com cromo orgânico. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.2, p.491-499, 2011.
60. MOTERIO, F. M.; MERCADANTE, M. E. Z.; BARROS, C. M.; SATRAPA, R. A.; SILVA, J. A. V.; OLIVEIRA, L. Z.; SARAIVA, N. Z.; OLIVEIRA, C. S.; GARCIA, J. M. Reproductive tract development and puberty in two lines of Nellore heifers selected for postweaning weight. **Theriogenology**, Stoneham, v.80, p.10–17, 2013.
61. NAKADA, K.; ISHIKAWA, Y.; NAKAO, T.; SAWAMUKAI, Y. Changes in responses to GnRH on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion in prepubertal heifers. **Journal Reproduction and Development**, Tokyo, v.48, p.545-551, 2002.

62. NASCIMENTO, A. V.; SILVA, L. E.; BANARI, A. C.; OLIVEIRA, J. A.; GRISOLIA, A. B.; SENO L. O. Polimorfismos no éxon 20 do gene receptor da leptina em fêmeas Nelore do Mato Grosso do Sul. In.: IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 2012, João Pessoa, **Anais...** João Pessoa: 2012.
63. NOGUEIRA, G. P. Puberty in South American *Bos indicus* zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.82-83, p.361-372, 2004.
64. OLIVEIRA, J. F. C.; GONÇALVES, P. B. D.; FERREIRAI R.; GASPERIN, B.; SIQUEIRA, L. C. Controle sobre GnRH durante o anestro pós-parto em bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.12, p.2623-2631, 2010.
65. PATTERSON, D. J.; PERRY, R. C.; KIRACOFÉ, G. H. Management considerations in heifer development and puberty. **Journal Animal Science**, Savoy, v.70, p.4018- 4035, 1992.
66. PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford: Oxford University Press, 1987. 179p.
67. PEIXOTO, L. A. O. **Desempenho produtivo, reprodutivo e perfil metabólico protéico de vacas de corte suplementadas no pós-parto**, 2004. 137f. Dissertação (Mestrado Zootecnia) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.
68. PEIXOTO, L. A. O.; OSÓRIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 299-304, 2007.
69. PERRY, R. C., CORAH, L. R., COCHRAN, R. C., BRETHOUR, J. R., OLSON, K. C., HIGGINS, J. J. Effects of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v.4, n.1, p.12–18, 1991.
70. PFEIFER, L. F. M.; NELSON, A. S.; DIONELLO, J. L.; CORRÊA, M. N. Marcadores moleculares associados à reprodução animal. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.14, n.1, p.05-09, 2008.

71. PFISTER-GENSKOW, M.; HAYES, H.; EGGEN, A.; BISHOP, M. D. The leptin receptor (LEPR) gene maps to bovine chromosome 3q33. **Mammalian Genome**, New York, v.8, p.227, 1997.
72. PINTO, L. F. B.; FERRAZ, J. B. S.; PEDROSA, V. B.; ELER, J. P.; MEIRELLES, F. V.; BONIN, M. N.; REZENDE, F. M.; CARVALHO, M. E.; CUCCO, D. C.; SILVA, R. C. G. Single nucleotide polymorphisms in CAPN and leptin genes associated with meat color and tenderness in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.10, n.3, p.2057-2064, 2011.
73. PORETSKY, L. On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism in insulin-resistant states. **Journal and Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.12, p.3–12, 1991.
74. QUINTERO, J. C.; RUÍZ CORTEZ, T. Efectos de la leptina en el inicio de la pubertad de animales machos. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín v.21. p.97-108, 2008.
75. RAMSAY, T.G.; YAN, X.; MORRISON, C. The obesity gene in swine: sequence and expression of porcine leptin. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.76, p.484-90, 1998.
76. RESTLE, J.; POLLI, V. A.; SENNA, D. B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 701-707, 1999.
77. RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T. PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, Stoneham, v.79, p.135–141, 2013.
78. ROMANO, M. C. **Efeito do nível nutricional sobre a antecipação da idade à puberdade e caracterização de dinâmica folicular nos períodos pré e pós púbere em novilhas Nelore**, 1997. 103f. Tese (Doutorado em Medicina

Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

79. SANTIAGO, L. L.; TORRES, C. A. A.; URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; CECON, P. R.; NOGUEIRA, E. T. Perfil hormonal de progesterona durante o ciclo estral em novilhas nelore confinadas com diferentes ondas de crescimento folicular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, p.2017-2020, 2001.

80. SCHILLO, K. K. 'Oestrus Cycles'. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. San Diego: Academic Press, 2003.

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

82. SCHILLO, K. K.; HANSEN, P. J.; KAMWANJA, L. A.; DIERSCHKE, D. J.; HAUSER, E. R. Influence of season on sexual development in heifers: age at puberty as related to growth and serum concentrations of gonadotropins, prolactin, thyroxine and progesterone. **Biology of Reproduction**, Madison, v.28, p.329-341, 1983.

83. SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.ed. Ephrata: Cadmus Professional Communications, 2005. 373p.

84. SIGNORETTI, R. D.; RESENDE, F. D.; DRUBI, G. M.; SOUZA, F. H. M.; DIB, V.; OLIVEIRA, E. M. Desenvolvimento corporal de novilhas leiteiras suplementadas com minerais inorgânicos e orgânicos em pastejo na época das águas. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.14, n.2, p.336-349, 2013.

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

86. SILVA, N. M. V.; RIBEIRO, M. N.; ROCHA, L. L.; GOMES FILHO, M. A.; LIMA, A. P. S. Polimorfismo genético da leptina e do receptor do hormônio do

crescimento em caprinos. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v.61, n.234, p.187-195, 2012.

87. SIQUEIRA, R. L. P. G.; OLIVEIRA, J. A.; LÔBO, R. B.; BEZERRA, L. A. F.; TONHATI, H. Análise da variabilidade genética aditiva e de características de crescimento da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2003.

88. SOARES, M. A. M.; GUIMARÃES, S. E. F. O papel da leptina e de seus receptores no metabolismo da gordura. In: 2º Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína, Concórdia, 2001. **Anais...** Concórdia, 2001.

89. STAIGMILLER, R. B.; BELLOWES, R. A.; SHORT, R. E.; MACNEIL, M. D.; HALL, J. B.; PHELPS, D. A.; BARTLETT, S. E. Conception rates in beef heifers following embryo transfer at the pubertal or third estrus. **Theriogenology**, Stoneham, v.39, p.315, 1993.

90. STRADIOTTI JÚNIO, D.; COSÉR, A. C. Perfil metabólico: produção e reprodução de bovinos. In.:DEMINICIS, B. B.; MARTINS, C. B.; SIQUEIRA, J. B. **Tópicos especiais em Ciência Animal I: coletânea da 1ª Jornada Científica da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santos**. Alegre, Editora CAUFES, 2012. 169p.

91. TAOUIS, M.; CHEN, J.; DAVIAUD, C.; DUPONT, J.; DEROUET, M.; SIMON J. Cloning the chicken leptin gene. **Gene**, v.208, p.239-42, 1998.

92. TARTAGLIA, L. A. The leptin receptor. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.272, p.6093-6096, 1997.

93. VAZ, R. Z.; RESTLE, J.; VAZ, M. B.; PASCOAL, L. L.; VAZ, F. N.; BRONADANI, I. L. ALVES FILHO, D. C.; NEIVA, J. N. M. Desempenho de novilhas de corte até o parto recebendo diferentes níveis de suplementação durante o período reprodutivo, aos 14 meses de idade. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.3, p.797-806, 2012.

94. WETTERE, W. H. E. J.; MICHELLD, M.; REVELLA, D. K.; HUGHES, P. E. Nutritional restriction of pre-pubertal liveweight gain impairs ovarian follicle growth and oocyte developmental competence of replacement gilts. **Theriogenology**, Stoneham, v.75, p.1301–1310, 2011.
95. WILLIAMS, G. L.; AMSTALDEN, M.; GARCIA, M. R.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 23, p. 339-349, 2002.
96. WITTWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: GONZÁLEZ, F. H. D. BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H. RIBEIRO, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Gráfica Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p.53-62.
97. WITTWER, F.; CONTRERAS, P. A. Consideraciones sobre el empleo de los perfiles metabólicos en ganado lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.12, n.1, p.180-188, 1980.
98. ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, London, v.372, p.425-32, 1994.
99. ZIEBA, D. A.; AMSTALDEN, M.; MORTON, S.; MACIEL, M. N.; KEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Regulatory roles of leptin at the hypothalamic-hypophyseal axis before and after sexual maturation in cattle. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 71, p. 804–812, 2004.

CAPÍTULO 2 – PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DA GESTAÇÃO EM NOVILHAS NELORE

RESUMO

O objetivo desse estudo foi verificar a relação do perfil bioquímico e hematológico com a ocorrência de gestação em novilhas Nelore criadas a pasto. Foram acompanhadas 56 novilhas no período de 17 meses, realizou-se nove colheitas com intervalos de dois meses no qual foram avaliados idade e peso; e quantificado as concentrações séricas de proteína total, magnésio, fósforo, cálcio, albumina, glicose, colesterol, uréia, atividade sérica da gama glutamiltransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina, contagem de hemácias, de leucócitos, de plaquetas, valor de hematócrito, teor de hemoglobina e fibrinogênio para relacionar possíveis alterações no perfil bioquímico e hematológico com a ocorrência da gestação em novilhas. Das 56 novilhas avaliadas, 66,07% ficaram gestantes com intervalo de idade de $28,70 \pm 2,73$ a $30,55 \pm 2,80$ meses e peso entre $328,92 \pm 32,47$ a $386,81 \pm 46,56$ kg. Os animais que gestaram obtiveram maiores valores para as variáveis albumina, uréia, hemácias, hemoglobina e hematócrito e menores valores para AST, ALP e GGT. Dentre as probabilidades associadas a ocorrência de gestação, pode-se destacar as variáveis idade, peso e proteína total. Conclui-se neste estudo que a ocorrência de gestação em novilhas Nelore criadas a pasto apresentou relação com as variáveis proteína total, albumina, uréia, AST, ALP, GGT do perfil bioquímico e com as variáveis hemácias, hematócrito, hemoglobina e leucócitos do perfil hematológico.

Palavras-chave: *Bos taurus indicus*, idade, peso, precocidade sexual

BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL PROFILE ASSOCIATED WITH PREGNANCY IN NELLORE HEIFERS

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the relationship between biochemical and hematological profile and the occurrence of pregnancy in Nellore heifers raised on pasture. We evaluated the heifers (56) during 17-month, and carried out nine collections every two months to evaluate age and weight, and determine serum concentrations of total protein, magnesium, phosphorus, calcium, albumin, glucose, cholesterol, urea, serum activity of gamma glutamyl transferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, erythrocyte, leukocyte, platelet counts, hematocrit value, hemoglobin and fibrinogen to relate possible changes in hematological and biochemical profile with the occurrence of pregnancy in heifers. Of the 56 heifers evaluated, 66.07% were pregnant with age range from 28.70 ± 2.73 to 30.55 ± 2.80 months and weighing 328.92 ± 32.47 to 386.81 ± 46.56 kg. The animals that gave birth presented higher values of the variables albumin, urea, erythrocytes, hemoglobin and hematocrit, and lower values for AST, ALP and GGT. Among the probabilities associated to pregnancy, age, weight and total protein can be highlighted. We concluded that the occurrence of pregnancy in heifers raised on pasture was related to variables total protein, albumina, urea, AST, ALP, and GGT af the biochemical profile, and the variables hematocrit, hemoglobin and leukocyte of the blood profile.

Keywords: Age, *Bos taurus indicus*, sexual precocity, weight

1 INTRODUÇÃO

A puberdade é um evento fisiológico importante para a vida produtiva de novilhas, por estar associada ao início da atividade reprodutiva. Estas modificações estão relacionadas com a diminuição da sensibilidade do eixo hipotalâmico-hipofisário a ação do estrógeno, que resulta no aumento na pulsatilidade de LH consequentemente ovulação do folículo dominante, sendo esta seguida da formação de um corpo lúteo funcional (CARDOSO & NOGUEIRA 2007). A ocorrência da puberdade é influenciada por diversos fatores como nutrição, idade, genótipo, estação do ano, peso corporal e ambiente social (RORIE et al., 2002).

Diversos estudos foram realizados na tentativa de antecipar a ocorrência da puberdade e consequentemente a idade a primeira gestação, dentre estes a utilização de terapias hormonais (CLARO JÚNIOR et al., 2010), uso da bioestimulação (OLIVEIRA et al., 2009; FIOL et al., 2010), a seleção de animais sexualmente precoce (BOLIGON & ALBUQUERQUE 2011) e o manejo nutricional que é amplamente estudado por ser de fácil aplicação e ter alta influencia na ocorrência desses eventos (SEMMELMAN et al., 2001; ROCHA & LOBATO, 2002; MENEGAZ et al., 2008; PILAU & LOBATO, 2009).

Manejes nutricionais que proporcionem alto ganho de peso, rápido desenvolvimento corporal e alto escore de condição corporal, estão associados à redução da idade a primeira gestação e aumento nas taxas de novilhas gestantes (VAZ & LOBATO, 2010a). Para avaliar o balanço nutricional utiliza-se a avaliação do escore de condição corporal, como método auxiliar a esta avaliação pode-se utilizar o perfil bioquímico, esta metodologia analisa os componentes sanguíneos e reflete de maneira confiável o equilíbrio homeostático do animal (GONZÁLEZ et al., 2000).

O perfil bioquímico não é um exame nutricional, mas um método que permite observar a capacidade de homeostase do animal sendo indicador do balanço metabólico, portanto, pode ser usado para orientar as indicações dos nutricionistas (WITTEWER, 2000).

O objetivo desse estudo foi verificar a relação do perfil bioquímico e hematológico com a ocorrência de gestação em novilhas Nelore criadas a pasto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Embrapa Cerrados, Planaltina - DF. O clima na região é caracterizado como tropical-quente-subúmido com duas estações definidas: uma seca (maio a setembro) e outra chuvosa (outubro a abril) (Embrapa Cerrados – CPAC: www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario). Foram acompanhadas 56 novilhas da raça Nelore com idade média de $16,57 \pm 2,52$ meses e peso médio de $227,11 \pm 34,32$, oriundas do plantel de seleção da empresa. O período experimental teve duração de 17 meses, tendo início em fevereiro de 2008 e término em junho de 2009, neste período as médias de temperatura estiveram entre 16,1 a 27,9°C, com precipitação pluviométrica de 1414,80 mm.

Os animais foram mantidos sob as mesmas condições, em pastagens cultivadas de *Brachiaria decumbens*, com taxa de lotação de 1UA/ha, sob pastejo contínuo, com sal mineralizado oferecido em cochos cobertos. O manejo sanitário, desverminação e vacinação, foram realizados de acordo com o calendário profilático-sanitário da região do Distrito Federal.

Dois touros com avaliação andrológica positiva foram introduzidos no primeiro mês de colheita no rebanho composto por 56 novilhas visando identificar as fêmeas que gestaram, condição determinante para finalização das colheitas. O diagnóstico de gestação foi realizado com auxílio de um aparelho de ultrassonografia por via transretal.

Durante o período experimental de 17 meses, a cada dois meses foram realizadas as amostragens, sendo obtido o peso, diagnóstico de gestação e a colheita de sangue para caracterização do perfil bioquímico e hematológico, totalizando nove colheitas de cada parâmetro.

O sangue foi colhido por venopunção da jugular em três tubos de ensaio a vácuo (Vacutainer®) contendo EDTA, fluoreto e sem anticoagulante. O sangue total obtido em tubos com EDTA foi utilizado para realização das análises hematológicas e as outras amostras sanguíneas foram centrifugadas em temperatura ambiente a 4695 g por 10 minutos para a obtenção de plasma e soro, sendo o último estocado a -20°C.

A determinação da glicose foi feita com as amostras de plasma dos tubos com fluoreto, sendo usado reagente comercial (Labtest Diagnóstica S. A.®, Lagoa Santa) com leitura em analisador bioquímico automático (espectrofotômetro Bioplus®, Bio-2000 IL-A). A separação do plasma ocorreu dentro de no máximo quatro horas após a colheita e as determinações ocorreram em um período máximo de 24 horas.

Nas amostras de soro foram quantificados proteína total, magnésio, fósforo, cálcio, albumina, colesterol, uréia, atividade sérica da gama glutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) utilizando reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica S. A.®, Lagoa Santa) com leitura em analisador bioquímico automático (espectrofotômetro Bioplus®, Bio-2000 IL-A), sendo as reações processadas a temperatura de 37°C. A globulina foi determinada por meio da subtração dos valores de albumina dos valores de proteína total.

As análises hematológicas foram realizadas dentro de 24 horas, em analisador hematológico veterinário automático (ABX Vet ABC®, Horiba ABX Diagnostics). Foram determinados os valores de hematócrito, número total de hemácias, teor de hemoglobina, contagem total de leucócitos e plaquetas. Além do hemograma utilizou-se o sangue total para obtenção do plasma e determinação do fibrinogênio, baseando-se na sua precipitação em banho-maria a 56°C e posterior leitura em refratômetro manual, conforme SCHALM et al. (1981).

As análises bioquímicas e hematológicas foram realizadas no Laboratório de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ-UFG).

Para avaliar a relação dos componentes bioquímicos e hematológicos com a ocorrência da gestação separaram-se as novilhas em dois grupos, gestantes e não gestantes. Após a separação realizou-se a comparação das médias de cada variável entre os grupos utilizando teste T. Para avaliar o efeito dos componentes do perfil bioquímico e hematológico sobre a ocorrência da gestação utilizou-se os testes de regressão logística. As associações entre as características foram investigadas usando análise de correlação e componentes principais. As análises foram realizadas com o auxílio do software Statistical Analysis System – SAS® (2004).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Das 56 novilhas avaliadas, 66,07% ficaram gestantes no intervalo de idade de $28,70 \pm 2,73$ a $30,55 \pm 2,80$ meses e peso entre $328,92 \pm 32,47$ a $386,81 \pm 46,56$ kg, e as novilhas não gestantes finalizaram as avaliações com idade e peso de $31,04 \pm 1,40$ meses e $379,47 \pm 36,86$ kg. A idade observada neste experimento é elevada quando se trata de sistema de produção intensivo, para o qual se busca antecipar o início da atividade reprodutiva das fêmeas, segundo BERETTA et al. (2001), a antecipação da idade ao primeiro parto associada a uma elevada taxa de natalidade resulta na melhor eficiência do sistema produtivo.

Neste estudo a idade média à primeira gestação das novilhas está dentro dos valores descritos para a raça. Segundo NOGUEIRA (2004), a idade média brasileira para a primeira concepção em bovinos de corte é de 31 meses, podendo ter variações de 16 a 40 meses dependendo das condições ambientais. Estão descritos na literatura intervalos de idade no início da vida reprodutiva muitos amplos para a raça Nelore, estes variam de 16 a 19 meses (MONTANHOLI et al., 2004; BARCELLOS et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009; SHIOTSUKI et al., 2009), 24 a 28 meses (SERENO et al., 1991ab; RESTLE et al., 1999; SILVA et al., 2005; BARCELLOS et al., 2006; VIEIRA et al., 2006) e de 40.8 meses (SERENO et al., 2001).

A variação de resultados do presente estudo e os acima citados, para idade ao início da vida reprodutiva é justificada pelas diferenças genéticas dos animais de cada estudo e pelos manejos adotados em cada experimento. Segundo BOLIGON et al. (2008), o manejo adotado em cada propriedade influencia na manifestação das características reprodutivas principalmente no início da atividade reprodutiva.

Os animais tiveram elevada idade à primeira gestação, isto pode ser justificada pela baixa taxa de crescimento ao longo do experimento (Figura 1) devido a baixa qualidade de forragem na época seca do ano, segundo EUCLIDES et al. (2001) e ANDRADE et al. (2012), a redução da qualidade da forragem nos períodos de seca resulta no baixo desenvolvimento dos animais ou a perda de peso dos mesmos. EUCLIDES et al. (2001) relataram que a redução da qualidade

da forragem é resultante do acúmulo de frações recusadas das plantas pelos animais durante o pastejo contínuo.

A elevada idade à primeira concepção e o baixo desenvolvimento observados neste experimento pode ser evitados buscando alternativas de manejo, como suplementação e melhoria das pastagens, para proporcionar maiores ganhos de peso e maiores pesos no período de acasalamento como descrito por SEMMELMANN et al. (2001); MENEGAZ et al. (2008); PILAU & LOBATO (2009); VAZ & LOBATO (2010ab); GOJJAM et al. (2011).

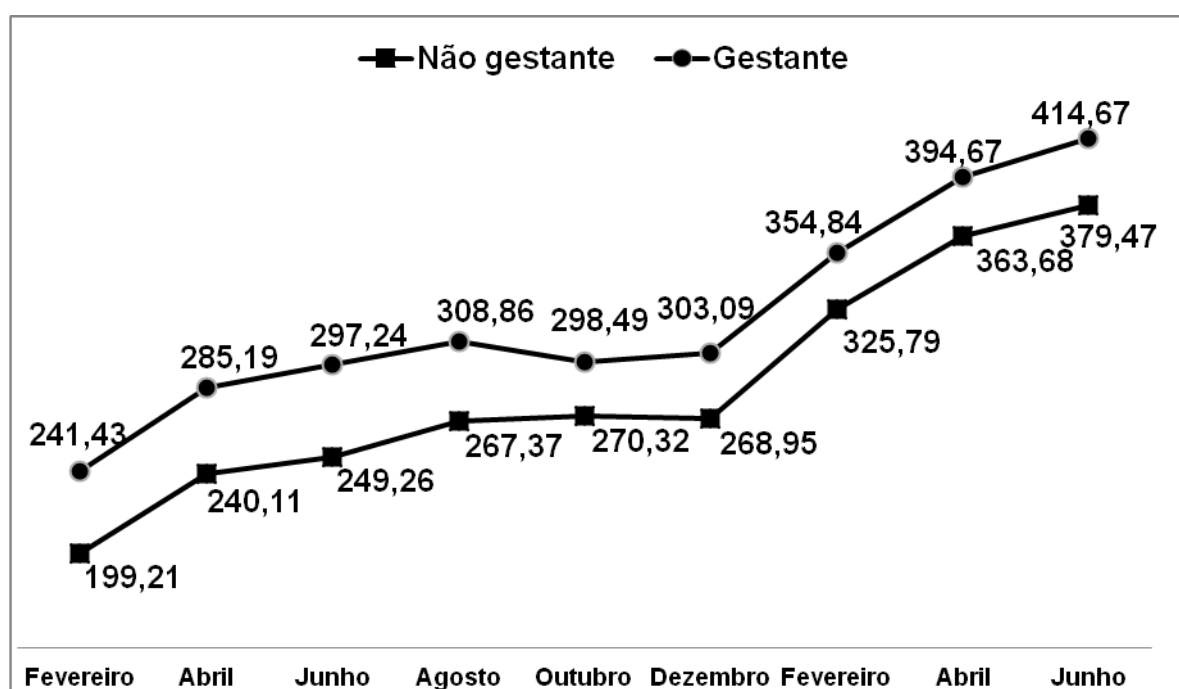


FIGURA 1 – Peso médio das novilhas Nelore criadas a pasto durante o período experimental.

A taxa de gestação de 66% encontrada neste estudo está dentro dos intervalos descritos na literatura para novilhas da raça Nelore que varia de 18 a 83,7 % (OLIVEIRA et al., 2009; CLARO JÚNIOR et al., 2010; CORDOVA & CIFFINI, 2010; CABRAL et al., 2013). Para aumentar essa, pode-se utilizar alternativas que estimulem a atividade ovariana de novilhas (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007), tais como bioestimulação (OLIVEIRA et al., 2009; MENEZES et al., 2010), tratamentos hormonais (CLARO JÚNIOR et al., 2010; CABRAL et al., 2013) e utilização de manejos nutricionais que proporcionem rápido desenvolvimento em idades jovens (MENEGAZ et al., 2008; VAZ & LOBATO,

2010a). Estas alternativas proporcionam o incremento de 15 a 160 % na taxa de gestação.

Os resultados do perfil bioquímico e hematológico estão representados na tabela 1. Ao confrontar os valores do perfil bioquímico das novilhas que não gestaram e que gestaram com os valores referenciados por FAGLIARI et al., (1998), VÁSQUEZ & HERRERA (2003) e LIMA & FIORAVANTI (2010) para a raça Nelore, observou-se que os mesmos estão próximos aos normais descritos por estes autores. Os valores dos componentes do perfil hematológico das novilhas também estão próximos aos valores descritos por FAGLIARI et al. (1998) e VÁSQUEZ & HERRERA (2003) para a raça.

Ao comparar os componentes bioquímicos e hematológicos entre os dois grupos, não gestantes e gestantes, observa-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as variáveis: albumina, uréia, AST, ALP, GGT, hemácias, hemoglobina e hematócrito. Os valores das variáveis albumina, uréia, hemácias, hemoglobina e hematócrito foram maiores para os animais que gestaram no período experimental. Já os valores de AST, ALP e GGT foram maiores para os animais que não gestaram (Tabela 1).

Os valores de albumina e uréia são componentes que indicam o metabolismo proteico dos animais e que suas concentrações tem relação com a disponibilidade de proteína na dieta do animal (STRADIOTTI JÚNIOR & COSÉR, 2012). Neste experimento os animais estavam sobre o mesmo tratamento indicando que o aumento nas concentrações de albumina e uréia pode ser decorrente de um melhor aproveitamento dos componentes proteicos da dieta pelos animais do grupo gestante, portanto este melhor aproveitamento proporcionou um melhor desempenho reprodutivo, uma vez que estas tonaram-se gestantes.

GONZÁLEZ et al. (2000) observaram resultados semelhantes ao obtido neste experimento, no qual encontraram diferença de 0,16 g/dl nas concentrações de albumina relacionado com a ocorrência de gestação em bovinos submetidas ao mesmo manejo nutricional.

O aumento nas concentrações dos componentes proteicos, como o observado no experimento, e nos componentes energético foram descritos na literatura associados a um melhor desempenho reprodutivo. MORIEL et al.

(2012), avaliando a suplementação energética e o desempenho reprodutivo de novilhas de corte, relataram maiores concentrações de glicose associada a maiores taxas de prenhez no início da estação de acasalamento. CAMPANELI et al. (2010), ao estudarem o perfil metabólico e a função ovariana de búfalas jovens, SENOSY et al. (2013), estudando a função ovariana de ovelhas submetidas a dieta com alto nível de energia e SAMADI et al. (2013), analisando a inter-relação entre nutrição, hormônios metabólicos e reestabelecimento da ovulação, também observaram o aumento nas concentrações dos componentes bioquímicos como glicose, colesterol, proteína total e uréia, associados a melhores resultados reprodutivos.

As alterações fisiológicas decorrentes da aproximação da puberdade, ocorrência da puberdade e gestação, também podem ser fatores que contribuíram com o aumento nas concentrações de albumina e uréia. ANTUNOVIĆ et al. (2004) e BRITO et al. (2006), trabalhando com ovelhas em diferentes condições fisiológicas, observaram que a condição do animal altera o metabolismo do mesmo, resultando em alteração dos componentes bioquímicos.

As variáveis AST, ALP e GGT são utilizadas para descrever o funcionamento hepático e o aumento destes componentes acima dos valores de referência indicam lesão hepática (GONZÁLEZ et al., 2011), condição não encontrada neste trabalho. As menores concentrações séricas das enzimas hepáticas para os animais que gestaram (AST $82,70 \pm 21,42$ U/L; ALP $256,26 \pm 78,18$ U/L; GGT $19,79 \pm 5,24$ U/L) em relação as que não gestaram (AST $72,55 \pm 14,70$ U/L; ALP $239,66 \pm 64,53$ U/L; $17,83 \pm 6,07$ U/L) podem indicar uma melhor eficiência metabólica, pois, sob as mesmas condições observou-se maiores valores de albumina, uréia e melhor desempenho reprodutivo (Tabela 1). Segundo STOJEVIĆ et al. (2005), as enzimas hepáticas são catalisadores de reações metabólicas de aminoácidos, carboidratos e suas concentrações estão relacionadas com a atividade celular. Os mesmos autores observaram alterações nas enzimas hepáticas decorrente de modificações metabólicas que ocorrem durante a lactação, associado a uma maior demanda de nutrientes nas fases de maior produção leiteira. FAGLIARI et al. (1998) também relataram mudanças nas concentrações enzimáticas em decorrência das modificações fisiológicas dos animais, diferentemente de VIEIRA et al. (2010) que atribuíram o aumento na

atividade hepática decorrente da baixa qualidade das forragens entre períodos de avaliações no qual os animais foram submetidos.

As modificações encontradas para valores hematológicos podem ser resultantes da melhor condição metabólica dos animais que gestaram, pois estes estavam sobre as mesmas condições ambientais o que não justifica as alterações hematológicas por influencia do meio ambiente, segundo DELFINO et al. (2012), os componentes hematológicos além de sofrerem alterações decorrentes de patologias, estes sofrem modificações influenciadas pelo meio no qual o animal está submetido.

As alterações da contagem de hemácias justifica-se por um possível aumento do metabolismo do grupo das novilhas gestantes, o que resulta em um maior consumo de oxigênio e conseqüentemente uma maior necessidade de hemácias para transporte deste. Segundo CUNNINGHAN (2008), a contagem total de hemácias está relacionada com a demanda do organismo por oxigênio, ou seja, o aumento desta demanda eleva a quantidade de hemácias. Os maiores valores de hemoglobina e hematócrito estão relacionados com o aumento das contagens de hemácias, uma vez que a hemoglobina é constituinte proteico destas células responsável pelo transporte de oxigênio e o hematócrito consiste nas concentrações de hemácias no sangue. Vale salientar que os componentes hematológicos são utilizados na clínica animal como método auxiliar de avaliação de saúde e são escassos trabalhos que descrevem a relação destes componentes com o desempenho reprodutivo.

TABELA 1 – Valores medidos do perfil bioquímico e hematológico de novilhas Nelore não gestante e gestante, criadas a pasto na região de Planaltina DF.

	Não Gestantes					Gestantes				
	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Mínimo	Máximo
Proteína Total (g/dl)	7.46 ^a	0.73	9.78	5.20	8.90	7.46 ^a	0.77	10.38	5.10	8.90
Albumina (g/dl)	3.01 ^b	0.47	15.79	2.17	4.50	3.16 ^a	0.49	15.63	2.10	5.30
Globulina (g/dl)	4.45 ^a	0.85	19.13	2.00	6.13	4.31 ^a	0.96	22.34	0.40	6.45
Uréia (mg/dl)	18.25 ^b	5.29	29.02	6.60	32.00	19.49 ^a	5.85	30.04	7.90	41.90
Colesterol (mg/dl)	130.81 ^a	26.64	20.36	77.90	197.70	133.85 ^a	28.54	21.32	72.90	209.00
Glicose (mg/dl)	69.64 ^a	14.81	21.26	43.00	123.00	71.31 ^a	15.20	21.32	46.00	146.00
Magnésio (mg/dl)	2.44 ^a	0.64	26.23	1.01	5.30	2.40 ^a	0.62	25.76	0.99	4.11
Fósforo (mg/dl)	5.88 ^a	1.58	26.93	3.30	8.90	5.68 ^a	1.63	28.65	2.60	10.20
Cálcio (mg/dl)	9.79 ^a	1.93	19.74	4.10	17.29	9.65 ^a	1.85	19.13	5.80	15.40
AST(U/L)	82.70 ^a	21.42	25.90	47.00	230.00	72.55 ^b	14.70	20.26	41.00	141.00
ALP (U/L)	256.26 ^a	78.18	30.51	116.00	439.00	239.66 ^b	64.53	26.92	99.00	398.00
GGT (U/L)	19.79 ^a	5.24	26.46	7.65	38.25	17.83 ^b	6.07	34.05	3.82	76.50
Leucócitos (10³/ml)	10.25 ^a	3.07	29.93	5.10	19.00	10.32 ^a	2.87	27.85	4.60	21.40
Hemácias (10⁶/ml)	9.01 ^b	1.80	19.98	4.18	18.68	9.34 ^a	1.48	15.86	4.46	15.64
Hemoglobina (g/dl)	11.03 ^b	1.55	14.09	6.90	14.90	11.96 ^a	1.74	14.54	1.40	17.00
Hematócrito (%)	34.80 ^b	5.10	14.66	13.10	51.50	37.27 ^a	5.49	14.73	10.30	60.10
Plaqueta (10³/ml)	388.46 ^a	263.85	67.92	89.00	1335.00	375.81 ^a	203.98	54.28	44.00	1178.00
Fibrinogênio (mg/dl)	406.51 ^a	319.44	78.58	0.00	2000.00	411.85 ^a	370.18	89.88	0.00	2400.00

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa (p<0,05) entre os grupos.

Na tabela 2 estão descritos os valores de correlação entre o estado fisiológico gestante com as variáveis idade, peso e do perfil bioquímico e hematológico. Pode-se destacar a correlação mediana entre a variável gestação com a idade e peso, o que se espera, pois observa-se o aumento da taxa de gestação nos rebanhos decorrente do aumento da idade e do peso das novilhas na estação de acasalamento.

A correlação entre gestação e proteína total, apesar de baixa, mostra-se positiva, o que sugere um aumento nas concentrações séricas de proteína nos animais que gestaram. Este aumento pode ser resultante do melhor metabolismo destas novilhas devido a gestação. A associação entre o aumento nas concentrações dos componentes proteicos e melhores índices reprodutivos e produtivos foram descritos por GONZÁLEZ et al. (2000) e STRADIOTTI JÚNIOR & COSÉR (2012).

Os resultados das correlações entre gestação com as variáveis globulina, hemácias e plaquetas, podem ser decorrentes da elevada idade das novilhas ao se tornarem gestantes. O aumento da globulina pode ocorrer por uma maior produção de anticorpos, pelo maior tempo de exposição do animal as condições ambientais. Já a redução dos componentes sanguíneos pode ser resultante de uma menor atividade metabólica dos animais, por estarem mais próximos da idade adulta.

TABELA 2 – Correlação entre idade, peso, puberdade, gestação e perfil bioquímico e hematológico de novilhas Nelore criadas a pasto na região de Planaltina-DF

	Gestação
Gestação	1.00
Idade	0.381**
Peso	0.382**
Proteína total	0.165**
Magnésio	-0.003
Fósforo	0.103*
Cálcio	0.064
Albumina	0.057
Colesterol	0.074
Uréia	-0.027
AST	-0.043
ALP	-0.050
GGT	-0.031
Glicose	-0.077
Globulina	0.105*
Leucócitos	0.065
Hemácias	-0.158**
Hemoglobina	-0.021
Hematócrito	-0.075
Plaqueta	-0.185**
Fibrinogênio	-0.001

* Indica correlação significativa $p < 0.5$

** Indica correlação significativa $p < 0.001$

As variações entre as características idade, peso, gestação e do perfil bioquímico e hematológico foram representadas através de um gráfico de componentes principais (Figura 2). Os primeiros dois componentes explicam 43 % das variações entre as características. O primeiro autovetor mostra que com o aumento da idade e peso favorece a ocorrência da gestação e associado a estas modificações têm-se o aumento das concentrações de proteína total, globulina, magnésio, GGT, AST, hemoglobina, hematócrito e na contagem total de hemácias. No segundo autovetor é possível visualizar o aumento das concentrações séricas de fósforo, cálcio, magnésio, proteína total, globulina, albumina, uréia, glicose, GGT, AST, ALP e fibrinogênio relacionado com o aumento da idade, peso e ocorrência de gestação. As interações observadas podem ser justificadas pelas alterações fisiológicas que ocorrem no animal com o

aumento da idade, bem como devido a ocorrência da puberdade e da gestação, as modificações bioquímicas e hematológicas são semelhantes as descritas por FAGLIARI et al. (1998), ANTUNOVIĆ et al. (2004) e BRITO et al. (2006).

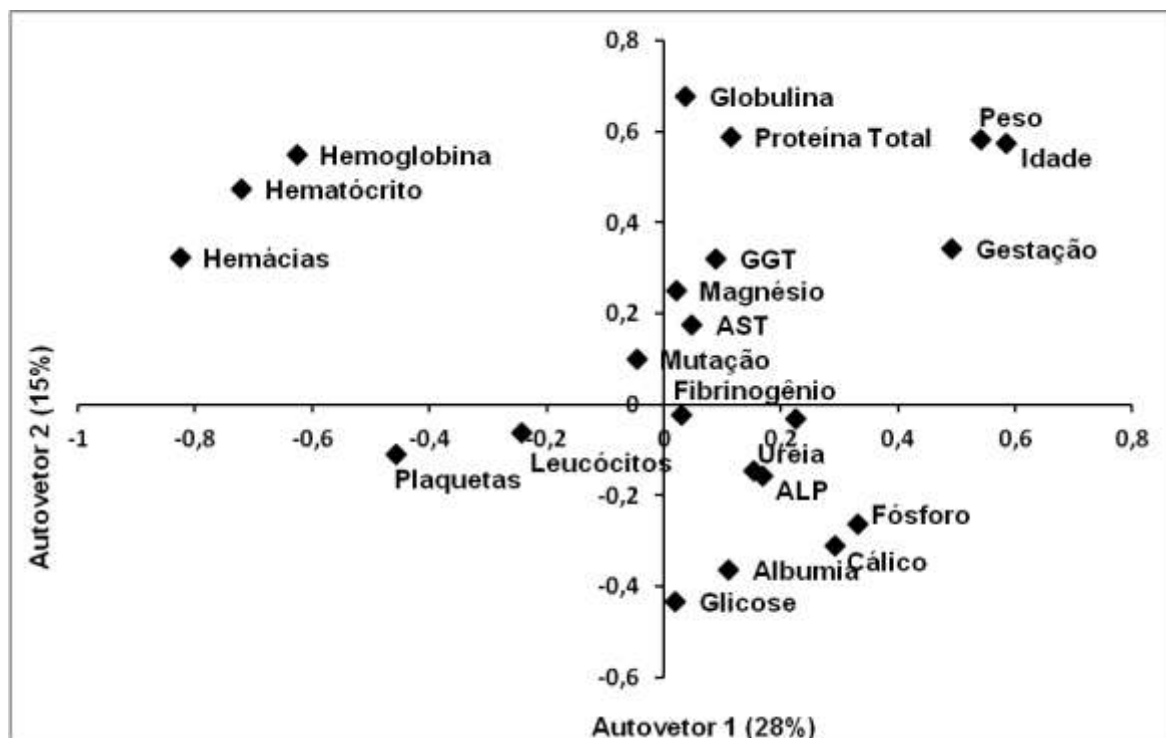


FIGURA 2 – Representação gráfica dos componentes principais das características produtivas e do perfil bioquímico e hematológico das novilhas Nelore criadas a pasto na região de Planaltina, DF.

A tabela 3 indica quais variáveis têm maior probabilidade de influenciar a ocorrência da gestação. Os resultados obtidos confirmam as observações de que além do ganho em peso e o aumento da idade, as modificações nos componentes bioquímicos e hematológicos podem ser resultado da ocorrência da gestação em novilhas Nelore. O aumento do ganho de peso e da idade das fêmeas influenciam na ocorrência da gestação, informações semelhantes as descritas por VIEIRA et al. (2006) e BATISTA et al. (2012) que observaram o aumento na taxa de gestação associado ao aumento da idade e do peso dos animais. Além dessas variáveis o aumento nas concentrações de proteína total e contagem total de leucócitos e a redução das concentrações de AST e GGT, possui relação positiva com a ocorrência da gestação em novilhas.

TABELA 3 – Análise de regressão logística para a ocorrência de gestação em novilhas em relação às variáveis idade, peso e do perfil bioquímico e hematológico.

Parâmetro	Estimativa	Erro padrão	Qui – quadrado	Valor de p
Idade	0.442	0.102	18.880	<.0001
Peso	0.014	0.006	5.574	0.018
Proteína total	1.055	0.379	7.756	0.005
AST	-0.065	0.021	9.366	0.002
GGT	-0.136	0.053	6.463	0.011
Leucócitos	0.241	0.094	6.586	0.010

4. CONCLUSÃO

A ocorrência de gestação em novilhas Nelore criadas a pasto apresentou relação com as variáveis, proteína total, alumina, uréia, AST, ALP, GGT do perfil bioquímico e com as variáveis hemácias, hematócrito, hemoglobina e leucócitos do perfil hematológico.

REFERÊNCIAS

1. ANTUNOVIĆ, Z.; ŠPERANDA, M.; STEINER, Z. The influence of age and the reproductive status to the blood indicators of the ewes. **Archiv Tierzucht**, Dummerstorf, V.47, n.3, p.265-273, 2004.
2. BARCELLOS, J. O. J.; SILVA, M. D.; PRATES, E. R.; COSTA, E. C. Taxas de prenhez em novilhas de corte acasaladas aos 18 e 24 meses de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 6, p. 1168-1173, 2006.
3. BATISTA, D. S. N.; ABREU, U. G. P.; FERRAZ FILHO, P. B.; ROSA, A. N. Índices reprodutivos do rebanho Nelore da fazenda Nhumirim, Pantanal da Nhecolândia. **Acta Scientiarum, Animal Sciences**, Maringá, v. 34, n. 1, p. 71-76, 2012.

4. BERETTA, V.; LOBATO, J. F. P.; MIELITZ NETTO, C. G. A. Produtividade e eficiência biológica de sistemas pecuários de cria diferindo na idade das novilhas ao primeiro parto e na taxa de natalidade do rebanho no Rio Grande de Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.4, p.1278-1286, 2001.
5. BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic parameters and relationships of heifer pregnancy and age at first calving with weight gain, yearling and mature weight in Nelore cattle. **Livestock Science**, n.141, p.12-16, 2011.
6. BOLIGON, A. A.; VOZZI, P. A.; NOMELINI, J.; RORATO, P. R. N.; BEZERRA, L. A. F.; LÔBO, R. B. Parâmetros genéticos para idade ao primeiro parto estimados por diferentes modelos para rebanhos da raça Nelore. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.432-436, 2008.
7. BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L. BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.942-948, 2006.
8. CABRAL, J. F.; LEÃO, K. M.; SILVA, M. A. P.; BRASIL, R. B. Indução do estro em novilhas Nelore com implante intravaginal de progesterona de quarto uso. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 20, n. 1, p. 49-53, 2013.
9. CAMPANELI, G.; BARUSELLI, P. S.; VECCHIO, D.; PRANDI, A.; NEGLIA, G.; CARVALHO, N. A. T.; SALES, J. N. S.; GASPARRINI, B.; DOCCHI, M.J. Growth, metabolic status and ovarian function in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers fed a low energy or high energy diet. **Animal Reproduction Science**, Edinburg, n.122, p.74-81, 2010.
10. CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v.10, n.1, p.59-67, 2007.
11. CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; AONO, F. H. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Reproductive performance of prepubertal

Bos indicus heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, Stoneham, n.74, p. 903-911, 2010.

12. CORDOVA, I. F. M.; CIFFONI, E. M. G. Correlação entre a taxa de prenhez, idade, peso, medidas lineares e escore corporal, em novilhas Nelore de 13 a 24 meses, na região norte do Mato Grosso – Brasil. **FAZU em Revista**, Uberaba, n.7, p. 172 - 176, 2010.

13. CUNNINGHAN, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 4º Edição, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008. 579p.

14. DELFINO, L. J. B.; SOUZA, B. B.; SILVA, R. M. N.; SILVA, W. W. Influência bioclimatológica sobre os parâmetros hematológicos de bovinos leiteiros. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Patos, v.8, n.1, p.23-27, 2012.

15. EUCLIDES, V. P. B.; EUCLIDES FILHO, K.; COSTA, F. P.; FIGUEIREDO, G. R. Desempenho de novilhos F1s Angus-Nelore em pastagens de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 2, p.470-481, 2001.

16. FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos lactantes, desmamados e adultos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.50, n.3, p.263-271, 1998.

17. FIOL, C.; QUINTANS, G.; UNGERFELD, R. Response to biostimulation in Peri-puberal beef heifers: influence of male-female proximity and heifer's initial body weight. **Theriogenology**, Stoneham, n.74, p.569-575, 2010.

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

19. GONZÁLEZ, F. D.; MUIÑO, R.; PEREIRA, V.; CAMPOS, R. BENEDITO, J. L. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function

during early lactation in high-yielding dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v.12, n.3, p.251-255 2011.

20. GONZÁLEZ, F. H. D.; CONCEIÇÃO, T. R.; SIQUIERA, A. J. S.; LA ROSA, V. L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v.20, n. 117, p.59-62, 2000.

21. LIMA, F. G.; FIORAVANTI, M. C. S. Diagnóstico laboratorial de hepatopatias aplicado a bovinos criados no Brasil. **Revista CFMV**, Brasília, n.51, p.60-75, 2010.

22. MENEGAZ, A. L.; LOBATO, J. F. P.; PEREIRA, A. C. G.; Influência do manejo alimentar no ganho de peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.10, p.1844-1852, 2008.

23. MENEZES, L. M.; BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A. Efeitos da bioestimulação sobre a performance reprodutiva em bovinos de corte. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 59, p.1-13, 2010.

24. 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**, Brasília, v.39, n.12, p.1253-1259, 2004.

25. MORIEL, P.; COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; VENDRAMINI, J. M. B.; ARTHINGTON, J. .D. Effects of energy supplementation frequency and forage quality on performance reproductive and physiological responses of replacement beef heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, n.90, p. 2371-2380, 2012.

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

27. OLIVEIRA, C. M. G.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; 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**, Amsterdam, v.113, p.38-43, 2009.

28. PILAU, A.; LOBATO, J. F. P. Suplementação energética pré-acasalamento aos 13/15 meses de idade para novilhas de corte: desenvolvimento e desempenho reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.12, p.2482-2489, 2009.

29. REIS, R. A.; RUGGIERI, A. C.; OLIVEIRA, A. A.; AZENHA, M. V.; CASAGRANDE, D. R. Suplementação como estratégia de produção de carne de qualidade em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.3, p.642-655, 2012.

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

31. ROCHA, M. G.; LOBATO, J. F. P. Sistemas de alimentação pós-desmama de bezerras de corte para acasalamento com 14/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1814-1822, 2002.

32. RORIE, R. W.; BILBY, T. R.; LESTER, T. D. Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v.57, p.137-148, 2002.

33. SAMADI, F.; PHILLIPS, N. J.; BLACHE, D.; MARTIN, G. B.; D'OCCHIO, M. J. Interrelationships of nutrition, metabolic hormones and resumption of ovulation in multiparus suckled buf cows on subtropical pastures. **Animal Reproduction Science**, Edinburg, Article in Press, 2013.

34. SCHALM, W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Hematología veterinaria**. Buenos Aires:Hemisferio Sur, 1981. 856 p

35. SEMMELMANN, C. E. N.; LOBATO, J. F. P.; ROCHA, M. G. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de

novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.3, p.835-843, 2001.

36. SENOSY, W.; ABDEL-RAHEEM, Sh. M.; ABD-ALLAH, M.; FAHMY, S.; HASSAN, E. H.; DERAR, R. I. Effect of transient high-energy diet Just after ovulation on ovarian performance and metabolic status in cyclic ewes. **Small Ruminant Reserch**, Amsterdan, n.109, p.152-155, 2013.

37. SERENO, J. R. B.; PELLEGRIN, A. O.; LARA, M. A. C.; ABREU, U. G. R. de; SERENO, F. T. P. S.; CHALITA, L. V. A. S. Precocidad sexual de novillas de la raza Pantaneira frente a las razas Nelore y mestizas Pantaneira x Nelore en el Pantanal brasileño. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 50, p.153-157, 2001.

38. SERENO, J. R. B.; SATURNINO, H. M.; RUAS, J. R. M.; PAULINO, M. F. Efeito da suplementação alimentar no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore pós-desmama. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 15, p. 52-63, 1991a.

39. SERENO, J. R. B.; SATURNINO, H. M.; RUAS, J. R. M.; PAULINO, M. F. Efeito da suplementação alimentar no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore aos dois anos de idade. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 15, p. 41-51, 1991b.

40. SHIOTSUKI, L.; SILVA, J. A. II de V.; ALBUQUERQUE, L. G. Associação genética de prenhez aos 16 meses com o peso à desmama e o ganho de peso em animais da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 7, p. 1211-1217, 2009.

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

42. Statistical Analysis System – SAS. **System for Microsoft Windows**: release 9.1. Cary: 2004. CD-ROM.

43. STOJEVIĆ, Z.; PIRŠLJIN, J.; MILINKOVIĆ-TUR, S.; ZDELAR-TUK, M.; LJUBIĆ, B. B. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, v.75, n.1, p.67-73, 2005.
44. STRADIOTTI JÚNIO, D.; COSÉR, A. C. Perfil metabólico: produção e reprodução de bovinos. In.: DEMINICIS, B. B.; MARTINS, C. B.; SIQUEIRA, J. B. **Tópicos especiais em Ciência Animal I: coletânea da 1ª Jornada Científica da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santos**. Alegre, Editora CAUFES, 2012. 169p.
45. VÁSQUEZ, E. F. A.; HERRERA, A. del P. N. Concentração plasmática de cortisol, uréia, cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de cromo durante a estação de monta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.4, p.743-747, 2003.
46. VAZ, R. Z.; LOBATO, J. F. P. Efeito da idade de desmame no desempenho reprodutivo de novilhas de corte exposta à reprodução aos 13/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.1, p.142-150, 2010a.
47. VAZ, R. Z.; LOBATO, J. F. P. Efeito da idade do desmame no desenvolvimento de novilhas de corte até os 14/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.2, p.289-298, 2010b.
48. VIEIRA, A.; LOBATO, J. F. P.; CORRÊA, E. S.; TORRES JÚNIOR, R. A. A.; COSTA, F. P. Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore criadas a pasto nos cerrados do Centro-Oeste brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.1, p.186-192, 2006.
49. VIEIRA, M. B.; SCHWEGLER, E.; GOULART, M. A.; SILVA, V. M.; LESTON, J.; TABELÃO, V. C.; FONTOURA JÚNIOR, J. A.; DEL PINO, F. A. B.; CORRÊA, M. N. Avaliação do perfil metabólico de touros em diferentes fases do ciclo reprodutivo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.47, n.1, p.31-37, 2010.

50. WITTWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: GONZALEZ, F. H. D., BARCELLOS, J. O., OSPINA, H., RIBEIRO, L. A. O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Gráfica Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.53-62, 2000.

CAPÍTULO 3 – POLIMORFISMO DO EXON 20 DO GENE DO RECEPTOR DA LEPTINA E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LEPTINA EM NOVILHAS NELORE CRIADAS A PASTO

RESUMO

As modificações fisiológicas que ocorrem na puberdade em novilhas são alvos de estudos para melhor compreender este fenômeno e identificar alternativas para se atingir maior precocidade reprodutiva. Dentre os fatores mais relevantes que influenciam a puberdade pode-se destacar a leptina e o seu receptor, por se tratar em fatores que realizam a comunicação entre o status nutricional e o eixo reprodutivo, sendo que sua participação na fisiologia reprodutiva não está completamente esclarecida. Objetivou-se com este estudo identificar a ocorrência de polimorfismos no exon 20 do receptor da leptina e relacioná-lo com as concentrações séricas de leptina e à ocorrência da puberdade em novilhas Nelore criadas a pasto. Foram acompanhadas 56 novilhas Nelore durante 17 meses no qual realizou-se a dosagem de progesterona para a determinação da ocorrência da puberdade, dosagem da leptina e sequenciamento do gene do receptor da leptina para identificação de ocorrência de polimorfismos do tipo SNP. Após a identificação da manifestação da puberdade em 37 novilhas e a associação das concentrações séricas de leptina e a ocorrência de SNPs com a ocorrência deste fenômeno fisiológico, não foi encontrada relação entre as variáveis estudadas com a manifestação da puberdade.

Palavras-chave: Bovino de corte, *Bos taurus indicus*, idade a puberdade, precocidade sexual, reprodução.

POLYMORPHISM OF EXON 20 OF THE LEPTIN RECEPTOR GENE AND SERUM LEPTIN CONCENTRATIONS OF NELLORE HEIFERS RAISED ON PASTURE

ABSTRACT

The physiological changes that occur at puberty in heifers are objectives of study in order to better understand this phenomenon and to identify alternatives to achieve greater sexual precocity. Among the most important factors that influence puberty the leptin hormone and its receptor can be highlighted, as they are factors that perform communication between the nutritional status and the reproductive axis, and its participation in reproductive physiology is not fully understood. Therefore, the aim of this study was to determine the serum profile of the leptin hormone, to identify polymorphisms at exon 20 of the leptin receptor and associate them with the occurrence of puberty in heifers raised on pasture. We followed 56 heifers for 17 months and carried out the progesterone assay for determining the puberty occurrence, leptin dosage and sequencing of the leptin receptor gene for identifying the occurrence of SNP polymorphisms. After identifying the manifestation of puberty in 37 heifers and the association of serum leptin and the occurrence of SNPs with the occurrence of this physiological phenomenon, no correlation was found between variables with the onset of puberty.

Keywords: Beef cattle, *Bos taurus indicus*, age of puberty, sexual precocity

1 INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro possui grandes diferenças de potencial de produção, o que representa variações de resultados entre as propriedades. Para minimizar essas diferenças e aumentar a capacidade produtiva deve-se intensificar a seleção dos animais para as características de interesse como rápido desenvolvimento, alto ganho de peso, precocidade de acabamento de carcaça e precocidade sexual (BOLIGON et al., 2008). Dentre as características a ser selecionada, pode-se destacar a idade a puberdade, pois esta possibilita reduzir o tempo em que uma fêmea fica na propriedade sem produzir bezerro, diminuindo o ciclo de produção desses animais (RESTLE et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2003).

A idade a puberdade é caracterizada como a perda da sensibilidade ao efeito do *feedback* negativo do estradiol, que resulta no aumento da secreção de hormônios gonadotróficos pelo eixo hipotalâmico-hipofisário e consequente desenvolvimento folicular, com posterior ovulação. Este evento fisiológico é influenciado por diversos fatores ambientais e genéticos, dentre estes pode-se destacar a influencia da nutrição (NOGUEIRA, 2004).

A comunicação da condição nutricional com o sistema reprodutor é descrita pela ação do hormônio leptina. Este hormônio é codificado pelo gene da leptina e se trata de um peptídeo secretado pelos adipócitos com ação na regulação do peso corporal e na ingestão de alimentos (HALAAS et al., 1995; PELLEYMOUNTER et al., 1995). A leptina é encontrado em muitas áreas do cérebro e outros tecidos, incluindo os ovários (BOLAND et al., 2001), tendo ação sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, ao sinalizar a condição nutricional (ZIEBA et al., 2004).

Estudos em bovinos também demonstram que a expressão gênica e a concentração da leptina circulante são afetadas pelo fluxo de nutrientes em novilhas na fase de pré-puberdade (AMSTALDEN et al., 2000), indicando uma relação das concentrações circulantes desse peptídeo e da expressão do seu gene com a ocorrência da puberdade (GARCIA et al., 2002). Portanto, alterações na estrutura do gene da leptina, assim como do gene que codifica seu receptor (LepR), podem provocar alterações nas concentrações do hormônio ou na sua

capacidade de atuação, influenciando na manifestação da puberdade (SU et al., 2012), podendo resultar em melhorias dos índices reprodutivos (SZYDA et al., 2011; TIAN et al., 2013), dentre outras características.

As modificações nos genes, quando associadas a melhores índices produtivos, podem ser utilizadas como marcadores moleculares. Estes marcadores são ferramentas importantes no processo de melhoramento genético animal, por permitir a identificação precoce de animais com genes associados a características de interesse zootécnico (PFEIFER et al., 2008).

O objetivo deste estudo foi identificar a ocorrência de polimorfismos no exon 20 do receptor da leptina e relacioná-lo com as concentrações séricas de leptina e a ocorrência da puberdade em novilhas Nelore criadas a pasto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram acompanhadas 56 novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com idade média de $16,57 \pm 2,52$ meses e peso médio de $227,11 \pm 34,32$ kg, nascidas e criadas na Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, durante um período de 17 meses (fevereiro de 2008 a junho de 2009). Os animais foram mantidos sob pastejo extensivo, em pastagens cultivadas de *Brachiaria decumbens*, com taxa de lotação de 1UA/ha, com sal mineralizado oferecido *ad libitum* em cochos cobertos. O manejo sanitário (desverminação e vacinação) foi realizado de acordo com o calendário profilático da região do Distrito Federal.

Dois touros com avaliação andrológica comprovada foram introduzidos no rebanho. A gestação foi condição determinante para finalização das colheitas de sangue. O diagnóstico de gestação foi realizado com auxílio de um aparelho de ultrassonografia (Aloca® 7,5 mHz).

Durante o período experimental de 17 meses, a cada dois meses foram feitas as amostragens, sendo obtido o peso e realizado o exame de ultrassonografia para detecção de gestação, totalizando nove períodos de colheitas de cada parâmetro. Neste período coletou-se sangue para dosagem de leptina e progesterona, sendo o último, com a finalidade de determinar o intervalo

de idade à puberdade. Estas foram realizadas em intervalos de sete dias, perfazendo quatro colheitas dentro do período de amostragem.

O sangue foi colhido por venopunção da jugular em tubos de ensaio a vácuo com heparina (Vacuntainer®). As amostras sanguíneas foram centrifugadas em temperatura ambiente a 4695 g por 10 minutos, para a obtenção de plasma e estocadas a -20°C para posterior avaliação hormonal. Na primeira colheita do experimento, também foram obtidas amostras de sangue para extração de DNA, com tubos a vácuo contendo EDTA (Vacuntainer®) para o sequenciamento do gene do receptor da leptina.

O plasma, obtido dos tubos heparinizados, foi utilizado para quantificar a progesterona e a leptina, pela técnica de radioimunoensaio (RIA), com a utilização de reagentes comerciais (Coat-A-Count, DPC, Los Angeles, CA e Millipore, Missouri, USA, respectivamente). As determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/UNESP.

As novilhas foram consideradas púberes quando as concentrações de progesterona ultrapassaram valores de 1ng/ml (PERRY et al., 1991; SANTIAGO et al., 2001). A definição das amostras sanguíneas para serem dosadas a progesterona sérica, utilizou-se como critério o mês do diagnóstico de gestação como a referência para o início da quantificação hormonal. Sendo assim, todas as amostras anteriores a esses momentos foram analisadas até obterem concentrações de progesterona inferiores a 1 ng/ml, permitindo a determinação do intervalo de ocorrência da puberdade.

A extração do DNA foi realizada utilizando a técnica de *Salting Out* (BIASE et al., 2002), em seguida o DNA do exon 20 do gene LepR das amostras de cada animal foi amplificado por PCR utilizando os *primers* (Foward: 5'-CAAAACAGAAATCAATAC-3' e Reverse: 5'-TTAAACAGTTAGGTCAC-3'), sendo os amplicons submetidos à eletroforese em gel de agarose e recortados do gel para serem purificados, utilizando o reagente comercial Wizard SV (Promega). Os amplicons purificados foram quantificados por espectrofotômetro (NanoDrop) e enviados à plataforma de sequenciamento de DNA da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia. As sequências resultantes foram alinhadas contra as sequências do gene LepR depositadas no *GenBank* das espécies *Bos taurus*

(AJ580801) e *Ovis Áries* (U62124) utilizando o programa DNAMAN (Lynnon Corporation).

Após as dosagens hormonais e sequenciamento do DNA analisou-se as possíveis interações da ocorrência de mutação no gene do receptor da leptina com as concentrações de leptina, comparando-se todas as dosagens do hormônio dos animais que apresentaram mutação com os que não apresentaram. Já para avaliar a relação da ocorrência da puberdade com os valores de leptina e a ocorrência da mutação, as novilhas foram separadas em quatro grupos: animais púberes sem mutação, animais púberes com mutação, animais não púberes sem mutação e animais não púberes com mutação. Assim sendo para realizar as avaliações, utilizou-se para comparação todas as amostras hormonais obtidas antes e após a ocorrência da puberdade.

Os valores de concentração de leptina entre os grupos e a ocorrência de mutação foram comparadas pelo teste T. Já para a análise de frequência da ocorrência da mutação entre os animais púberes e não púberes realizou-se o teste Qui-Quadrado e para a comparação entre a concentração de leptina entre os mesmos utilizou-se análise de variância, sendo as diferenças entre as médias confrontadas pelo teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa BioEstat 5.0, com nível de significância de 5%.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

O intervalo de idade à puberdade neste estudo foi de $26,75 \pm 2,91$ a $28,70 \pm 2,73$ meses e peso entre $303,36 \pm 24,88$ a $328,92 \pm 32,47$ kg, o que está dentro dos valores descritos para a raça. Segundo NOGUEIRA (2004), a idade média brasileira para a primeira concepção em bovinos de corte é de 31 meses, podendo ter variações de 16 a 40 meses dependendo das condições ambientais. Segundo BOLIGON et al. (2011), a variação entre as idades de início da atividade reprodutivas para a raça Nelore pode ser resultado no manejo adotado na propriedade, bem como da variabilidade genética dos rebanhos.

A elevada idade a puberdade neste experimento, pode ser resultante da seleção da propriedade, pois a mesma busca animais com alto ganho de peso

e elevado peso em idade adulta. Este manejo tem como consequência o aumento do porte dos animais quando adultos e consequente atraso na ocorrência da puberdade das fêmeas. Segundo PACHECO et al. (2008), a seleção de animais de grande porte pode significar a obtenção de rebanhos tardios e exigentes em termos nutricionais, sendo estes contrários a pecuária de ciclo rápido.

Para evitar novilhas tardias, como observado neste experimento, deve-se buscar a seleção para o rápido desenvolvimento em idades jovens e início precoce da atividade reprodutiva. BALDI et al. (2008) acreditam que os animais que desenvolvem precocemente entrem em reprodução mais cedo, o que aumenta as chances de conceberem mais jovem, determinando menor idade ao primeiro parto. Além da seleção, pode-se utilizar terapias hormonais (CLARO JÚNIOR et al., 2010; CABRAL et al., 2013), exposição a touro em idades jovens (OLIVEIRA et al., 2009; MENEZES et al., 2010) e alteração do manejo nutricional para que proporcionem maior disponibilidade de nutrientes ao animal em desenvolvimento (MENEGAZ et al., 2008; VAZ & LOBATO, 2010; PÖTTER et al., 2010; VAZ et al., 2012), estes manejos visam estimular o desenvolvimento do animais e proporcionar a ativação o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, antecipando o início da atividade reprodutiva.

O peso das novilhas à puberdade no trabalho representa o intervalo de 66 a 72% do peso adulto, considerando o peso médio de 456 kg das fêmeas adultas do rebanho BRGN. Verifica-se que este valor está próximo do valor encontrado por MONTANHOLI et al. (2004), que verificaram uma percentagem de 65% do peso adulto (460 kg) e abaixo do encontrado por FRENEAU et al., (2008) com valor de 85% do rebanho avaliado (450 kg). Essas variações de resultados podem ser justificadas pelo manejo alimentar adotado e variação genética de cada rebanho. Propriedades que trabalham com manejo nutricional que proporciona maior desenvolvimento inicial ou com a seleção para precocidade sexual, antecipam a ocorrência da puberdade e consequentemente o início da vida reprodutiva dessas fêmeas.

Em relação às concentrações séricas de leptina, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os valores encontrados para o grupo de novilhas não púberes ($2,14 \pm 0,18$ ng/ml) e púberes ($2,11 \pm 0,22$ ng/ml). A não alteração das concentrações de leptina pode ser justificada pela baixa qualidade da dieta no período de seca.

Segundo SILVA et al. (2009), PAULA et al. (2010) e MESACASA et al. (2012), animais criados a pasto estão expostos a dietas de baixa qualidade no período de seca, devido ao amadurecimento da forragem, esta condição ambiental reduz a taxa de crescimento dos animais. Para ser observadas modificações nas concentrações de leptina sérica são necessárias grandes alterações no peso corporal dos animais, para que ocorra uma maior formação de tecido adiposo e aumento da produção deste hormônio (GARCIA et al., 2002; CARVALHO, 2009).

Os ganhos de peso diário dos animais foram de $0,35 \pm 0,03$ kg e $0,47 \pm 0,15$ kg, para o grupo das novilhas que não entraram em puberdade e para as que entraram, respectivamente, havendo diferença entre os mesmo ($p < 0,05$). O maior desenvolvimento do grupo de novilhas púberes justifica a manifestação da puberdade, pois segundo VAZ et al. (2012), o rápido desenvolvimento corporal possibilita a manifestação precoce da puberdade. Porém este desenvolvimento não foi suficiente para alterar a deposição de gordura corporal e consequentemente alterar as concentrações de leptina, uma vez que estes animais estavam em desenvolvimento e na escala de crescimento, primeiro deposita-se massa muscular para depois depositar tecido adiposo, conforme descrito por SOUZA et al. (2012). Portanto, deve-se adotar manejos que proporcionem ganho de peso adequado, como por exemplo os que utilizam dietas de alta energia, que resultam em ganho de peso associado a deposição de gordura corporal e aumento nas concentrações de leptina sérica (PÖTTER et al., 2010; JENNINGS et al., 2011; SOUZA et al., 2012).

Os valores médios das concentrações de leptina dos grupos não púberes e púberes estão próximos ao descrito por ZIEBA et al. (2004) para novilhas submetidas a baixa disponibilidade de alimentação (2,0 ng/ml). Esta aproximação ocorre, pois os animais deste estudo estavam submetidos ao manejo extensivo de pastagem, sendo que estas fêmeas passaram por um período de baixa qualidade de forragem, fator este, que contribuiu para as baixas concentrações de leptina. Segundo DONATO JUNIOR et al. (2011) e ISRAEL et al. (2012), a redução da leptina sérica contribuem para o atraso na ocorrência da puberdade. Portanto as baixas concentrações de leptina encontradas neste estudo pode ter sido um dos fatores que contribuíram com a elevada idade à puberdade.

Neste experimento não foi observado aumento das concentrações de leptina com a aproximação da puberdade ($p>0,05$), sendo os valores de $2,10 \pm 0,24$ ng/ml e $2,12 \pm 0,20$ ng/ml observados nos momentos pré-puberal e puberal respectivamente. Resultados contrários foram descritos por GARCIA et al. (2002) que observaram o aumento de leptina sérica com a aproximação da puberdade de $3,8 \pm 0,4$ ng/ml para $6,4 \pm 0,4$ ng/ml, fato esse também descrito por, AMSTALDEN et al. (2000) trabalhando com novilhas na fase peripuberal, observou aumento nas concentrações séricas de leptina de 1,1 ng/ml para 1,5 ng/ml e por GONZALEZ-AÑOVER et al. (2012) trabalhando com suínos. Nestes estudos os animais estavam submetidos a dietas que proporcionavam crescimento contínuo dos animais com ganhos de peso de $1,1 \pm 0,1$ kg e 0.68 kg (GARCIA et al., 2002; AMSTALDEN et al., 2000), diferentemente do presente trabalho, no qual as novilhas tiveram ganho de peso de $0,47 \pm 0,15$ kg devido as influencias ambientais sofridas, uma vez que foram criadas a pasto. Este manejo resultou na alteração da qualidade da dieta e, conseqüentemente, a não modificação das concentrações de leptina com a aproximação da puberdade.

A não observação do aumento nas concentrações de leptina com aproximação da puberdade, neste experimento, sugere que este hormônio não é fator determinante para a ocorrência deste evento fisiológico. A manifestação da puberdade é decorrente de vários fatores ambientais e genéticos, que podem influenciar no padrão de secreção dos hormônios gonadotróficos e conseqüentemente na ocorrência da puberdade (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007; MENEGAZ et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; CLARO JÚNIOR et al., 2010; VAZ & LOBATO, 2010; PÖTTER et al., 2010; VAZ et al., 2012; CABRAL et al., 2013;).

Neste experimento foi observado a ocorrência da mutação na posição T945M do gene, que provoca uma mudança de aminoácido na proteína LepR (C115T) ao realizar alinhamento das sequências do gene do receptor da leptina dos animais. Esse mesmo polimorfismo também foi descrito em vacas das raças Holandês (LIEFERS et al., 2004), Aberdeen Angus, Brangus Ibagé e Charolês (ALMEIDA et al., 2008), Slovak Spotted (TRAKOVICKÁ, et al., 2011) e Nelore (PINTO et al., 2011; NASCIEMENTO et al., 2012). Ao observar a distribuição da mutação, não foi encontrado diferença ($p>0,05$) entre os grupos não púberes e púberes (Tabela 1).

Dos animais estudados, 19,64% (11 animais) apresentaram o polimorfismo C115T, alterando o aminoácido treonina para metionina e 80,35% (45 animais) não apresentaram esse polimorfismo (CC). Neste estudo não foi observado o alelo homozigoto (TT). A frequência dos genes estão próximos aos valores descritos por SILVA et al. (2012) e NASCIMENTO et al. (2012) na raça Nelore, sendo os valores observados por estes autores são respectivamente: alelo CC 77,3 e 72,7%, alelo CT 21,3 e 26,6% e alelo TT 1,4 e 0,7%. As pequenas variações dos estudos citados com o presente trabalho podem ser resultantes do número de animais avaliados.

Ao comparar as concentrações de leptina das novilhas que não apresentaram mutação ($2,11 \pm 0,18$ ng/ml) com as que apresentaram ($2,17 \pm 0,30$ ng/ml) não foi observada diferença entre os grupos ($p > 0,05$). E ao comparar os grupos de animais não púberes e púberes, com e sem mutação (Tabela 1), não foi observada diferença na distribuição dos animais com a mutação e nas concentrações de leptina, este resultado sugere que a mutação não possui influência nas características reprodutivas como idade a puberdade. A relação entre este polimorfismo e as concentrações de leptina foi descrita (LIEFERS et al., 2004), sendo esta associação encontrada em animais gestantes, em que os animais do genótipo CC apresentaram as maiores concentrações. Segundo estes autores essa alteração implica em ineficiência na transdução do sinal químico por uma isoforma curta com capacidade transdutora menor, comprometendo a função hormonal da leptina.

NASCIMENTO et al. (2012) trabalhando com novilhas Nelore, obtiveram resultados semelhantes ao deste experimento. Os mesmos observaram a ocorrência da mutação T945M e não relacionaram com a precocidade sexual. Estes autores relatam que o polimorfismo encontrado pode não ter influência sobre a característica reprodutiva de idade ao primeiro parto.

TABELA 1 – Distribuição da ocorrência da mutação do exon 20 do gene do receptor da leptina na posição T945M e concentração de leptina (ng/ml) entre as novilhas Nelore não púberes e púberes criadas a pasto

	Ocorrência do polimorfismo	Número de animais	Porcentagem de animais (%)	Concentração de leptina
Novilhas não púberes	Presente	3 ^a	5,36	2,20 ± 0,20 ^a
	Ausente	16 ^a	28,57	2,13 ± 0,17 ^a
Novilhas púberes	Presente	8 ^a	14,29	2,16 ± 0,33 ^a
	Ausente	29 ^a	51,79	2,09 ± 0,18 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indica diferença significativa (p<0,05)

Diferentemente do observado no experimento que não houve relação da mutação T945M com a característica produtiva idade a puberdade, KOMISAREK & DORYNEK (2006) descrevem a relação deste polimorfismo com a melhoria de parâmetros produtivos, pois a mutação foi associada a alterações da composição química do leite em bovinos da raça Jersey, que resultou no aumento de componentes como gordura e proteína. SECHENKIN et al. (2006) e SILVA et al. (2012) também observaram a associação do polimorfismo T945M com características produtivas. Os primeiros autores observaram que os animais com mutação apresentaram melhores escores de deposição de gordura subcutânea e maior espessura, além do melhor rendimento de carcaça. Já os segundos autores observaram maior ganho de peso do desmame ao sobreano (18 meses), nos animais com o polimorfismo.

PATTERSON et al. (2012) descreveram a necessidade de maior compreensão do receptor da leptina com o metabolismo energético e o eixo reprodutivo, pois a longo prazo este receptor pode tornar-se um marcador molecular para características reprodutivas. Além da associação de polimorfismos no receptor da leptina com a ocorrência da puberdade, deve-se observar a relação deste gene com outras características reprodutivas, uma vez que WANG et al. (2011) descreveram a ocorrência de polimorfismo no gene do receptor da leptina com o número de crias por parto em cabras. Portanto, é necessário mais estudos para melhor compreender a relação entre o polimorfismo T945M com as ações do hormônio leptina e as características reprodutivas.

4. CONCLUSÃO

No presente estudo não foi observado relação da ocorrência da mutação no gene do receptor da leptina T945M e das concentrações plasmáticas de leptina com a ocorrência da puberdade em novilhas criadas a pasto.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, S. E. M.; SANTOS, L. B. S.; PASSOS, D. T.; CORBELLINI, Â. O.; LOPES, B. M. T.; KIRST, C.; TERRA, G.; NEVES, J. P.; GONÇALVES, P. B. D.; MORAES, J. C. F.; WEIMER, T. A. Genetic polymorphisms at leptin receptor gene in three beef cattle breeds. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.31, n.3, p.680-685, 2008.
2. AMSTALDEN, M; GARCIA, M. R.; WILLIAMS, R. L.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin like-growth factor I. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 63, p.127-33, 2000.
3. BALDI, F.; ALENCAR, M. M.; FREITAS, A. R.; BARBOSA, R. T. Parâmetros genéticos para características de tamanho e condição corporal, eficiência reprodutiva e longevidade em fêmeas da raça Canchim. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 247-253, 2008.
4. BIASE, F. H.; FRANCO, M. M.; GOULART, L. R.; ANTUNES, R. C. Protocol for extraction of genomic DNA from swine solid tissues. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.25, p.313-315, 2002.
5. BOLAND, M. P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, oocyte and embryo development. **Theriogenology**, Stoneham, v.55, n.6, p.1323-1340, 2001.

6. BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G. Genetic parameters and relationships of heifer pregnancy and age at first calving with weight gain, yearling and mature weight in Nelore cattle. **Livestock Science**, n.141, p.12-16, 2011.
7. BOLIGON, A. A.; VOZZI, P. A.; NOMELINI, J.; RORATO, P. R. N.; BEZERRA, L. A. F.; LÔBO, R. B. Parâmetros genéticos para idade ao primeiro parto estimados por diferentes modelos para rebanhos da raça Nelore. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.432-436, 2008.
8. CABRAL, J. F.; LEÃO, K. M.; SILVA, M. A. P.; BRASIL, R. B. Indução do estro em novilhas Nelore com implante intravaginal de progesterona de quarto uso. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 20, n. 1, p. 49-53, 2013.
9. CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v.10, n.1, p.59-67, 2007.
10. CARVALHO, M. V. **Efeito do fornecimento crônico de leptina e da nutrição na maturação sexual de novilhas zebuínas (*Bos taurus indicus*)**. 2009. 115f. Dissertação (Nutrição e Produção Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
11. CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; AONO, F. H. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, Stoneham, n.74, p. 903-911, 2010.
12. DONATO JUNIOR, J.; CRAVO, R. M.; FRAZÃO, R.; ELIAS, C. F. Hypothalamic sites of leptin action linking metabolism and reproduction. **Neuroendocrinology**, Basel, v.93, p.9-18, 2011.
13. FRENEAU, G. E.; SILVA, J. C. C.; BORJAS, A. L. R.; AMORIM, C. Estudo de medidas corporais, peso vivo e condição corporal de fêmeas de raças Nelore *Bos taurus indicus* ao longo de doze meses. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 76-85, 2008.

14. GARCIA, M. R.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; MORRISON, C. D.; KEISLER, D. H.; NIZIELSKI, S. E.; WILLIAMS, G. L. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.80, p.2158-2167, 2002.
15. GONZALEZ-AÑOVER, P.; VIGO, E.; ENCINAS, T.; TORRES-ROVIRA, L.; PALLARES, P.; GOMEZ-IZQUIERDO, E.; SANCHEZ-SANCHEZ, R.; MALLO, F.; GONZALEZ-BULNESA, A. Prepuberal evolution of plasma leptin levels in gilts of thrifty genotype (Iberian pig) and lean commercial crossed (Large White X Landrace). **Research in Veterinary Science**, London, n.93, p.100-102, 2012.
16. HALAAS, J. L.; GAJIWALA, K. S.; MAFFEI, M.; COHEN, S. L.; CHAIT, B. T.; RABINOWITZ, D.; LALLONE, R. L.; BURLEY, S. K.; FRIEDMAN, J. M. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science**, New York, v.28; n.269, p.543-546, 1995.
17. ISRAEL, D. D.; SHEFFER-BABILA, S.; LUCA, C.; JO, Y.; LIU, S. M.; XIA, Q.; SEERGEL, D. J.; DUN, S. L.; DUN, N. J.; CHUA JR, S. C. Effect of leptin and melanocortin signaling interactions on pubertal development and reproduction. **Endocrinology**, Baltimore, v.153, n.5, p.2408-2419, 2012.
18. JENNINGS, J. S.; WERTZ-LUTZ, A. E.; PRITCHARD, R. H.; WEAVER, A. D.; KEISLER, D. H.; BRUNS, K. Circulating ghrelin and leptin concentrations and growth hormone secretagogue receptor abundance in liver, muscle and adipose tissue of beef cattle exhibiting differences in composition of gain. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 89, p.3954-3972, 2011.
19. KOMISAREK, J.; DORYNEK, Z. The relationship between the T945M single nucleotide polymorphism in the leptin receptor gene (LEPR) and milk production traits in Jersey cows. **Animal Science**, Penicuik, v.24, p. 271-277, 2006.
20. LIEFERS, S. C.; VEERKAMP, R. F.; TE PAS, M. F. W.; DELAVAUD, C.; CHILLIARD, Y.; VAN DER LENDE, T. A missense mutation in the bovine leptin

receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. **Animal Genetics**, v.35, p.138–141, 2004.

21. MENEGAZ, A. L.; LOBATO, J. F. P.; PEREIRA, A. C. G.; Influência do manejo alimentar no ganho de peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.10, p.1844-1852, 2008.

22. MENEZES, L. M.; BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A. Efeitos da bioestimulação sobre a performance reprodutiva em bovinos de corte. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 59, p.1-13, 2010.

23. MESACASA, A. C.; ZERVOUDAKIS, J. T.; ZERVOUDAKIS, L. K. H.; CABRAL, L. S.; ABREU, J. G.; LEONEL, F. P.; SILVA, R. P.; SILVA, R. F. G. Torta de girassol em suplementos múltiplos para bovinos em pastejo no período seco do ano: desempenho produtivo e viabilidade econômica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.4, p.1166-1179, 2012.

24. 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**, Brasília, v.39, n.12, p.1253-1259, 2004.

25. NASCIMENTO, A. V.; CRISPIM, B. A.; SILVA, L. E.; BANARI, A. C.; SENO L. O.; GRISOLIA, A. B. Precocidade sexual em fêmeas da raça Nelore e polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) no gene receptor da leptina. In.: Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2012, Dourados, **Anais...** Dourados: 2012.

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

27. OLIVEIRA, C. M. G.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; 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**, Amsterdam, v.113, p.38-43, 2009.

28. PACHECO, A.; QUIRINO, C. R.; PINHEIRO, O. L. V. M.; ALMEIDA, J. V. C. Medidas morfométricas de touros jovens e adultos da raça Guzerá. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.9, n.3, p.426-435, 2008.

29. PATTERSON, C. M.; VILLANUEVA, E. C.; GREENWALD-YARNELL, M.; RAJALA, M.; GONZALEZ, I. E.; SAINI, N.; JONES, J.; MYERS, M. G. Leptin action via LepR-b Tyr₁₀₇₇ contributes to the control of energy balance and female reproduction. **Molecular Metabolism**, Garching, v.1, p.61-69, 2012.

30. PAULA, N. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; CABRAL, L. S. CARVALHO, D. M. G.; ZERVOUDAKIS, L. K. H.; MORAES, E. H. B. K.; OLIVEIRA, A. A. Frequência de suplementação e fontes de proteína para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.4, p.873-882, 2010.

31. PELLEYMOUNTER, M.A.; CULLEN, M. J.; BAKER, M. B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science**, New York, v.28, n.269, p.540-543, 1995.

32. PERRY, R. C., CORAH, L. R., COCHRAN, R. C., BRETHOUR, J. R., OLSON, K. C., HIGGINS, J. J. Effects of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v.4, n.1, p.12–18, 1991.

33. PFEIFER, L. F. M.; NELSON, A. S.; DIONELLO, J. L.; CORRÊA, M. N. Marcadores moleculares associados à reprodução animal. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.14, n.1, p.05-09, 2008.

34. PINTO, L. F. B.; FERRAZ, J. B. S.; PEDROSA, V. B.; ELER, J. P.; MEIRELLES, F. V.; BONIN, M. N.; REZENDE, F. M.; CARVALHO, M. E.; CUCCO, D. C.; SILVA, R. C. G. Single nucleotide polymorphisms in CAPN and leptin genes

associated with meat color and tenderness in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.10, n.3, p.2057-2064, 2011.

35. PÖTTER, L.; ROCHA, M. G.; ROSO, D.; COSTA, V. G.; GLIENKE, L.; ROSA, A. N. Suplementação com concentrado para novilhas de corte mantidas em pastagens cultivadas de estação fria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.5, p.992-1001, 2010.

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

37. SANTIAGO, L. L.; TORRES, C. A. A.; URIBE-ELÁSQUEZ, L. F.; CECON, P. R.; NOGUEIRA, E. T. Perfil hormonal de progesterona durante o ciclo estral em novilhas Nelore confinadas com diferentes ondas de crescimento folicular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.6, p.2017-2020, 2001.

38. SCHENKENL, F. S.; MILLER, S. P.; MOORE, S. S.; LI, C.; FU, A.; LOBO, S.; MANDELL, I. B.; WILTON, J. W. Association of SNPs in the leptin and leptin receptor genes with different fat depots in beef cattle. In: World Congress on the Genetics Applied to Livestock Production, 8., **Proceedings...**, 2006.

39. SILVA, F. F.; SÁ, J. F.; SCHIO, A. R.; ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, R. R.; MATEUS, R. G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, p.371-389, (supl. especial), 2009.

40. SILVA, R. C. G.; FERRAZ, J. B. S.; MEIRELLES, F. V.; ELER, J. P.; BALIEIRO, J. C. C.; CUCCO, D. C.; MATTOS, E. C.; REZENDE, F. M.; SILVA, S. L. Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 11, p. 3721-3728, 2012.

41. SIQUEIRA, R. L. P. G.; OLIVEIRA, J. A.; LÔBO, R. B.; BEZERRA, L. A. F.; TONHATI, H. Análise da variabilidade genética aditiva e de características de

crescimento da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2003.

42. SOUZA, E. J. O.; VALADARES FILHO, S. C.; GUIM, A.; VALADARES, R. F. D.; PAULINO, P. V. R.; FERREIRA, M. A.; TORRES, T. R.; LAGE, J. F. Taxa de deposição de tecidos corporais de novilhas Nelore e suas cruzas com Angus e Simental. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.2, p.344-359, 2012.

43. SU, P.; YANG, S.; YU, J.; CHEN, S.; CHEN, J. Study of leptin levels and gene polymorphisms in patients with central precocious puberty. **Pediatric Research**, v.71, n.4, p.361-367, 2012.

44. SZYDA, J.; MOREK-KOPEC, M.; KOMISAREK, J.; ZAR NECKI, A. Evaluating markes in select genes for association with functional longevity of dairy cattle. **BMC Genetics**, v.12, n.30, 2011.

45. TIAN, J.; ZHAO, Z.; ZHANG, L.; ZHANG, Q.; YU, Z.; LI, J.; YANG, R. Association of leptin gene E2-169T>C and E3-299T>A mutations with carcass and meat quality traits of the Chinese Simmental-cross steers. **Gene**, Article in press, 2013.

46. TRAKOVICKÁ, A.; MORAVCÍKOVÁ, N.; MILUCHOVÁ, M. The T945M single nucleotide polymorphism of the bovine Leptin receptor gene in population of Slovak Spotted Bulls. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, Zagreb, v. 76, n.3, p. 161-164, 2011.

47. VAZ, R. Z.; LOBATO, J. F. P. Efeito da idade de desmame no desempenho reprodutivo de novilhas de corte exposta à reprodução aos 13/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.1, p.142-150, 2010.

48. VAZ, R. Z.; RESTLE, J.; VAZ, M. B.; PASCOAL, L. L.; VAZ, F. N.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; NEIVA, J. N. M. Desempenho de novilhas de corte até o parto recebendo diferentes níveis de suplementação durante o

período reprodutivo, aos 14 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.3, p.797-806, 2012.

49. WANG, P. G.; DENG, L. M.; ZHANG, B. Y.; CHU, M. X.; TAN, Y.; TAN, Y.; FAN, Q.; LIU, C. X. Identification of polymorphism on leptin receptor gene of goats in southwest China. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v..96, p.120-125, 2011.

50. ZIEBA, D. A.; AMSTALDEN, M.; MORTON, S.; MACIEL, M. N.; KEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Regulatory roles of leptin at the hypothalamic-hypophyseal axis before and after sexual maturation in cattle. **Biology of Reproduction**, Madison, v.71, p.804–812, 2004.

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A necessidade de se realizar a pecuária de ciclo curto leva a busca de meios para maximizar a vida produtiva dos animais nas propriedades. Como alternativa, pode-se antecipar a entrada das fêmeas na estação reprodutiva, aumentando assim o número de crias produzidas na fazenda. Para isto, pode-se utilizar manejos que estimulam a manifestação precoce da puberdade.

Porém, existem dificuldades na antecipação da puberdade devido as influencias genéticas e ambientais que esta característica sofre. Para facilitar o entendimento da ocorrência da puberdade deve-se buscar alternativas que facilitem sua identificação. Dentre estas, destaca-se a busca por marcadores para precocidade sexual, como marcadores sanguíneos, hormonais e genéticos.

Os marcadores sanguíneos são componentes bioquímicos e hematológicos que sofrem alterações associados às modificações endócrinas da puberdade. Dentre estes componentes bioquímicos pode-se destacar os componentes proteicos como albumina e uréia, as enzimas hepáticas como AST, ALP e GGT e nos componentes hematológicos a contagem total de hemácias, valores de hemoglobina e hematócrito. As modificações destes parâmetros sanguíneos decorrentes das interações fisiológicas da puberdade e pode contribuir nas identificações de animais com melhor metabolismo e sexualmente precoce.

Entre os marcadores hormonais e genético destaca-se o hormônio leptina e o gene do receptor da leptina. A literatura descreve a atuação do hormônio na ativação da ocorrência da puberdade, porém nas condições do presente trabalho não pode-se observar a relação entre leptina e puberdade. Este resultado indica que a leptina pode não ser o fator determinante na manifestação da puberdade, mas sim fazer parte de um conjunto de interações hormonais.

Quando se refere a presença de polimorfismo do gene do receptor pode-se observar a incidência de mutações, sendo que as mesmas são relacionadas com características produtivas como acabamento de carcaça, ganho de peso e características químicas do leite. Entretanto, ao se referir a características reprodutivas, assim como observado neste trabalho, não há

descrição da associação do polimorfismo observado no estudo como a manifestação precoce da puberdade.

Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de mais estudos para entender as alterações fisiológicas relacionados a puberdade em novilhas zebuínas, identificando-se assim alternativas que auxiliem na compreensão desse fenômeno e no desenvolvimento de manejos para a redução desta idade, buscando melhorar o desempenho produtivo da bovinocultura de corte com a produção de animais precoces.