UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Eficiência reprodutiva de novilhas Girolando púberes e pré-púberes
submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo

Rodolfo Thiago Santino Silva

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Eficiência reprodutiva de novilhas Girolando púberes e pré-púberes submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo

Rodolfo Thiago Santino Silva

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade federal da Paraíba, sob orientação do professor José Nélio de Sousa Sales.

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

S586e Silva, Rodolfo Thiago Santino.

Eficiência reprodutiva de novilhas Girolando púberes e pré-púberes submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo / Rodolfo Thiago Santino Silva. - Areia: UFPB/CCA, 2015.

20 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015. Bibliografia.

Orientador: José Nélio de Sousa Sales.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Rodolfo Thiago Santino Silva

Eficiência reprodutiva de novilhas Girolando púberes e pré-púberes submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em **Medicina Veterinária**, pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovada em:/	
Nota:	
Banca Examinadora	
Prof. Dr. José Nélio de Sousa Sales – UFPB – Doutorado em Reprodução Animal, USP Orientador	' -
Prof. Dr. Alexandre José Alves – UFPB - Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos UFPB.	S

Msc. Marquiliano Farias de Moura – UFPB - Mestrado em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, UFRPE.

AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço por tudo e por todas as pessoas que tem colocado em minha vida.

A minha família, meus pais, Josemar e Mércia, por terem me ensinado valores e terem me mostrado o caminho de crescer na vida, por terem me dado oportunidade de estudar e ter me formado, por confiarem em mim. A meus irmãos Iana e Feliphe, que sempre estiveram ao meu lado, me dando força, me mostrando o certo e o errado, me incentivando e me dando forças.

A minha noiva Priscila, por ser minha companheira por essa jornada na Medicina Veterinária, por ser paciente e ser essa pessoa que me completa, que faz meus dias cansativos passarem a ser dias alegres, por ser essa pessoa que me completa.

A meus colegas do curso de Medicina Veterinária, que sempre tiveram algo a aprender e algo a ensinar, nos aperreios das provas e nas viagens para os congressos e fazendas.

Aos professores que tive na longa jornada em areia, desde a Zootecnia e agora na Veterinária, no mestrado na UFCG.

A professor José Nélio, por ter aceitado me orientar nesse trabalho de conclusão de curso.

RESUMO

SILVA, R.T.S., Universidade Federal da Paraíba, Fevereiro de 2015. Eficiência reprodutiva

de novilhas Girolando púberes e pré-púberes submetidas a protocolo de inseminação

artificial em tempo fixo (IATF). Orientador: José Nélio de Sousa Sales.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do protocolo de sincronização da ovulação

na dinâmica folicular e taxa de ovulação de novilhas pré-púberes da raça Girolando. O

experimento foi realizado no município de Caturité- PB e foram utilizadas 37 novilhas, das

quais 12 eram pré-púberes. Todas as novilhas foram submetidas ao protocolo de

sincronização da ovulação. No estudo foram coletados os dados de dinâmica folicular e

momento de ovulação. Exames ultrassonográficos foram realizados a cada 12 horas a partir da

retirada do implante até a ovulação para avaliação da dinâmica folicular. Para avaliação dos

folículos, exames ultrassonográficos foram realizados no dia da retirada do dispositivo

intravaginal (D8), no momento da IATF (D10). Observou-se que o diâmetro do folículo na

retirada do dispositivo em novilhas púberes e pré-púberes foram respectivamente 7,04 ± 0,4

mm, 6,6 ± 1,0mm. Além disso, o diâmetro máximo de folículo em novilhas púberes foi de

 $11,5 \pm 0,94$ mm, e em novilhas pré-púberes foi de $9,2 \pm 0,1$ mm, o intervalo da retirada de

P4/ovulação nas novilhas púberes foi de 86,4 ± 5,9 horas, o que não ocorreu nas novilhas pré-

púberes, pois não ocorreu ovulação nesse grupo. Conclui-se que as fêmeas pré-púberes não

responderam ao protocolo de sincronização da ovulação devido à ausência de ovulação.

Palavras-Chave: reprodução, cruzadas, ovulação.

ABSTRACT

SILVA, R.T.S., Universidade Federal da Paraíba, February 2015. **Reproductive efficiency of Girolando prepubertal and pubertal heifers in fixed time artificial insemination protocol.** Adviser: José Nélio de Sousa Sales.

The objective of this study was to evaluate the effect of ovulation synchronization protocol on follicular dynamics and ovulation rate of Girolando prepubertal heifers. The experiment was conducted in Caturité- PB were used 37 heifers, of which 12 were prepubertal. The heifers, were followed ovulation synchronization protocol, and we collected data of follicular dynamics and ovulation time. Sonographic examinations were performed every 12 hours from the implant removal to ovulation for evaluation of follicular dynamics. For evaluation of the follicles, ultrasound examinations were performed with the removal of the intravaginal device (D8) at the time of TAI (D10). It was observed that the diameter of the follicle removal of the device in pubertal and prepubertal heifers were respectively 7.04 ± 0.4 mm $6.6 \pm 1,0$ mm. Furthermore, the maximum diameter of follicle pubertal heifers was 11.5 ± 0.94 mm and in prepubertal heifers was 9.2 ± 0.1 mm, the interval pickup P4 / ovulation in heifers was pubescent 86.4 ± 5.9 hours, which did not occur in prepubertal heifers because ovulation has not occurred in this group. It is concluded that prepubertal and did not respond to ovulation synchronization protocol due to lack of ovulation.

Keywords: reproduction, crusades, ovulation.

Sumário

1.INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 Local do experimento.	10
2.2 Período experimental	10
2.4 Protocolo hormonal	11
2.5 Exames ultrassonográfico.	11
2.6 Análises Estatísticas	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4. CONCLUSÃO	16
REFERÊNCIAS	17

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, contando com aproximadamente 212 milhões de animais, dos quais mais de 10% são vacas leiteiras, pertencentes a 1,3 milhões de produtores. Essas matrizes produziram cerca de 32 bilhões de litros de leite em 2012, colocando o país em terceiro lugar no ranking mundial de produção (IBGE, 2012).

No Brasil, a importância social e econômica do leite é inquestionável. Diante disto, é constante a busca por sistema de produção economicamente eficiente. Atualmente, percebe-se grande tendência para a adoção de sistemas de produção de leite a pasto com fêmeas bovinas mestiças (Holandês x Zebu), visando reduzir o uso de concentrado e, consequentemente, o custo de produção. Assim, pesquisas com animais cruzados atendem a número expressivo de produtores (ALMEIDA NETO, 2013).

A pecuária bovina leiteira teve nos últimos anos, acentuado crescimento na produção, aumentando de 14,4 bilhões em 1990 para mais 32,0 bilhões de litros/ano em 2012. Apesar do grande incremento na produção de leite no país, a produtividade não teve aumento significativo, aumentando de 759 kg/lactação em 1990 para 1.382 kg/vaca/ano em 2012, continuando muito inferior à Argentina (3.918 kg) e aos países desenvolvidos, no qual a média de produção é maior que 5.000 kg/lactação (IBGE, 2013).

Com o Intuito de aumentar a eficiência reprodutiva e produtiva, tem se utilizado protocolos de sincronização da ovulação. O uso da IATF apresenta inúmeras vantagens, dentre elas a sincronização da ovulação permitindo que os animais sejam inseminados em período pré-determinado, contornando os desafios da observação de cio e possibilitando que os animais sejam trabalhados em grupos (BARUSELLI et al., 2004a). Entretanto, no uso da IATF deve-se levar em consideração fatores que podem interferir na eficiência dessa biotecnologia como qualidade do sêmen, a execução da técnica de inseminação, o protocolo a ser utilizado e o manejo da propriedade, uma vez que as características reprodutivas são de baixa herdabilidade e, consequentemente, muito influenciadas pelo meio e, principalmente, pelo manejo nutricional (BARUSELLI et al., 2008). Além disso, outro fator que pode influenciar os resultados é a maturidade sexual das fêmeas. Novilhas pré-púberes podei apresentar resultados variados e muitas vezes, inferiores ao de vacas e novilhas púberes em bovinos de corte (SÁ FILHO et al., 2008).

Segundo a teoria denominada "hipótese gonadostática" o eixo hipotalâmico-hipofisárioovariano está funcionalmente competente, bem cedo, na vida de uma fêmea e, atribui a
ausência de secreção de GnRH durante a fase pré púbere à ação do estradiol (E2) por exercer
feedback negativo sobre o eixo hipotalâmicohipofisário. Assim, gradativa redução da
sensibilidade do hipotálamo aos efeitos inibitórios do E2, desencadeia um aumento na
frequência de liberação dos pulsos de LH, considerado o fator endócrino primário. Essa
liberação nos pulsos de LH é pré-requisito para o início da puberdade em novilhas (MARSON
et al.,2004), tal ação resulta em estímulo para o crescimento folicular e maior produção de E2,
que por sua vez induz o estro e a liberação do pico pré-ovulatório de LH, promovendo a
ovulação (RAWLINGS et al., 2003). Desta forma, a maturação hipotalâmica, necessária ao
desencadeamento da puberdade, ocorrerá a partir da redução do feedback negativo exercido
pelo E2, o que é observado no final da fase pré-púbere por redução do número de receptores
deste hormônio no hipotálamo e na adeno-hipófise, o que ocorre progressivamente com o
avançar da idade (DAY et al., 1987).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do protocolo de sincronização da ovulação na dinâmica folicular e taxa de ovulação de novilhas púberes e prépúberes da raça Girolando.

2. MATERIAL E METODOS

2.1 Local do experimento

O trabalho foi desenvolvido na Fazenda Umarí, localizada no município de Caturité – PB, microrregião do Cariri Oriental Paraibano, que esta situado à 7°25'12" S e 36°1'37" O e 405 metros de altitude (Figura 1). Na classificação climática de Köppen, o clima predominante na região do Cariri é do tipo Bsh, com chuvas de verão e outono, temperatura média anual de 24 °C, com evapotranspiração média anual maior do que a precipitação média do ano (MENDONÇA, F. & DANNI-OLIVEIRA, I.M. 2007).



Figura 1: Mapa da Paraíba em destaque Caturité Fonte: Wikipédia

2.2 Período experimental

O experimento foi realizado durante os meses de Agosto e Setembro de 2014.

2.3 Animais do experimento

As novilhas utilizadas no experimento eram da raça Girolando com graus de sangue variando entre 1/2, 3/4 e 7/8, Os animais selecionados (n=37) foram distribuídos em dois grupos, sendo 25 animais púberes com idade média de 24 meses e 12 animais pré-púberes com idade média de 14 meses, na seleção foram avaliados por, ultrassonografia, os ovários, o tamanho de útero e presença de corpo lúteo, além disso, os animais foram avaliados quanto ao

escore de condição corporal em uma escala de 1 (caquética) a 5 (obesa) (AYRES et al., 2008), estes foram mantidos com alimentação no cocho (volumoso e concentrado), durante todo período experimental e tiveram sal mineral *ad libitum*.

2.4 Protocolo hormonal

O protocolo de sincronização da ovulação utilizado teve como base de estradiol e progesterona e consistiu em administrar no dia 0 (D0), um implante intravaginal de progesterona (Sincrogest®, Ourofino, Brasil) e 2mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino, Brasil). No D8, o dispositivo de progesterona foi removido e os animais foram tratados com 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer, Brasil), 300 UI de eCG (Sincro eCG®, Ourofino, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ourofino, Brasil).

2.5 Exames ultrassonográficos

Para dinâmica folicular, os animais foram submetidos à exames ultrassonográficos a cada 12 horas a partir da retirada do implante até a ovulação com o auxílio de ultrassom equipado com probe de 5MHz (Aloka SSD-500, Japão). Considerou-se como ovulação, a ausência do folículo dominante observado em uma avaliação prévia ao seu desaparecimento.

2.6 Análises Estatísticas

A análise estatística foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for WindowsSAS® (SAS, 2000). As variáveis contínuas foram submetidas à análise de diferentes distribuições de dados e foram utilizadas para verificar diferença entre os tratamentos, as análises que apresentarem o menor Akaike's An Information Criterion (AIC). Para essa avaliação foi utilizado o procedimento GLIMMIX. A taxa de ovulação foi analisada por regressão logística para avaliação de dados binomiais pelo procedimento GLIMMIX. Considerou-se como diferença significativa entre as variáveis testadas, o P <0,05. As variáveis contínuas foram expressas em média e erro padrão da média (média ± EPM) e a binomial

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo verificou-se que as novilhas pré-púberes não responderam ao protocolo de sincronização de ovulação 0% (0/0), pois não houve ovulação nesse grupo experimental. De forma semelhante, as novilhas púberes apresentaram baixa taxa de ovulação 20 % (5/20), comprovando estatisticamente (P≥ 0,11). Em resumo, a relação do ECC dos grupos experimentais foram semelhantes, o diâmetro do folículo no D8 para os grupos experimentais não foi observado diferença, novilhas púbere obtiveram o diâmetro do folículo dominante semelhante ao do grupo pré-púbere. Ainda, o intervalo da retirada de P4 para a ovulação em novilhas púberes foi de 86,4 ±5,9 horas. Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da dinâmica folicular.

Tabela 1. Avaliação da dinâmica folicular de novilhas Girolando púberes e Pré-púberes submetidas ao protocolo de IATF.

	PÚBERE	PRÉ-PÚBERE	P
No. Animais	25	11	
Escore de condição corporal	$2,7\pm0,1$	$2,8 \pm 0,1$	0,57
Diâmetro folicular no D8	$7,0\pm0,4$	$6,6 \pm 1,1$	0,27
Diâmetro máximo FD (mm)	$9,4 \pm 0,4$	$9,2 \pm 0,1$	0,58
Diâmetro máximo FO	$11,5 \pm 0,9$	-	
Intervalo retirada de P4/ovulação (h)	$86,4 \pm 5,9$	-	
Taxa de Ovulação (%)	20,0 (5/20)	0,0 (0/11)	0,11

FD, Folículo dominante; FO, Folículo ovulatório.

Uma eficiente resposta reprodutiva ocorre quando o domínio técnico é satisfatório, e observam-se as exigências mínimas dos animais, tais como a status nutricional e sanitário (GOTTSCHALL, 2011). Dessa forma, práticas de manejo, mesmo em criações mais extensivas com predomínio de campo nativo, podem resultar na redução da idade média das

novilhas ao primeiro acasalamento de três para os dois anos de idade sem prejuízo à taxa de prenhez (GOTTSCHALL, 2012).

A IATF é uma biotécnica que ajuda no aumento da produtividade (GOTTSCHALL et al., 2009). O principal entrave em alguns casos para utilização dos protocolos em vacas de leite tem sido as baixas taxas de prenhez, quando comparamos com a IA convencional (PURSLEY et al., 1997). Porém, quando concentrações de progesterona do tratamento para IATF atingem concentrações luteais há aumento da frequência pulsátil de LH, estimulando o crescimento folicular e posterior ovulação (BARUSELLI et al., 2004a). Protocolos desenvolvidos para vacas de corte lactantes apresentam comprometimento na eficiência quando utilizados em novilhas (BARUSELLI et al., 2004b).

Uma das causas das diferenças observadas está relacionada com a concentração de progesterona durante o protocolo de IATF. Estudos demonstraram que elevadas concentrações de progesterona diminuem a frequência de liberação de hormônio luteinizante (LH) e do crescimento folicular (BERGFELD et al., 1995; BURKE et al., 1996).

Em trabalho de Carvalho et al. (2008) observou-se que novilhas *Bos indicus* e cruzadas a alta concentração de progesterona tiveram crescimento folicular reduzido, e consequentemente a taxa de ovulação. Entretanto, baixas concentrações de progesterona aumentam a frequência de pulsos de LH (ROBERSON et al., 1989; ADAMS et al., 1992), promovendo maturação prematura dos oócitos (REVAH & BUTLER,1996), queda na qualidade oocitária no momento da ovulação e consequente redução da viabilidade embrionária após a fecundação (AHMAD et al., 1995). Além disso, baixas concentrações de progesterona após a IA estão associadas à fertilidade reduzida (MANN et al., 1995; LARSON et al., 1997).

No presente estudo, utilizou-se dispositivos de progesterona novos, o que pode ter influenciado na resposta ao protocolo de IATF, pois tanto em novilhas pré púberes quanto em novilhas púberes a taxa de ovulação foi baixa. Diante disso, acredita-se que novilhas cruzadas Bos indicusXBos taurus são mais sensíveis aos níveis circulantes de progesterona liberados pelos dispositivos intravaginais novos, acarretando em menor resposta ao protocolo de IATF. Além disso, FERREIRA (1999) demonstra que avaliação de características relacionadas aos órgãos reprodutivos (tamanho e tônus uterino, tamanho dos ovários, crescimento folicular e presença de corpo lúteo), quando usado em novilhas de dois anos foi capaz de identificar animais com alta probabilidade de ovulação.

Logo após o nascimento, os neonatos apresentam redução na concentração sérica do hormônio luteinizante (LH). A partir da 10^a semana de vida, observa-se um aumento gradativo na secreção de LH, estendendo se até a 22^a semana, quando ocorre decréscimo na secreção de LH caracterizando uma segunda fase de contenção da atividade gonadal. Na fase seguinte que antecede a puberdade, o aumento na secreção de GnRH, nesta nova fase ocorre novo aumento na liberação de LH, restabelecendo a atividade gonadal e dando início ao período de maturidade sexual (EVANS et al., 1992).

A puberdade em novilhas consiste no momento da manifestação do primeiro estro, associado a uma ovulação, seguido pelo desenvolvimento do corpo lúteo (CL) e por uma fase luteal (MORAN et al., 1989).

Algumas hipóteses foram levantadas objetivando compreender os mecanismos fisiológicos relacionados à primeira ovulação. A primeira é a hipótese "gonadostática", ela indica uma desensibilização aos esteróides gonadais, diminuindo o número de receptores hipotalâmicos durante o período de maturação sexual, permitindo aumento da secreção de gonadotrofinas. A outra hipótese é conhecida como "central", envolve a presença de neurônios com capacidade de estimular ou inibir a secreção de gonadotrofinas, independentemente da ação dos esteróides gonadostáticos (HOHLWEG e DOHRN apud OJEDA e URBANSKI 1994).

Entre os mecanismos responsáveis pelo controle da secreção e da pulsatilidade de LH, podemos destacar os neurotransmissores capazes de estimular, como os aminoácidos excitatórios (glutamato, aspartato), neuropeptídeo Y, noraepinefrina, noradrenalina e ácido aspártico; e neurotransmissores inibitórios, como o GABA, dopamina, opióides endógenos e endorfinas (HONARAMOOZ et al., 2000). Em novilhas após o nascimento, opióides endógenos pode inibir a secreção de LH (HONARAMOOZ et al., 2000), essa ação diminui antes da primeira ovulação (WOLFE et al., 1992). Os mecanismos de contenção da secreção de LH podem estar relacionados com o sistema neuronal dopaminérgico e, a partir da 20^a semana de idade, o sistema ≪-adrenérgico pode aumentar a secreção de LH, determinando o momento da primeira ovulação (HONARAMOOZ et al., 2000). Além da influencia hormonal, o fator genético tem relação direta com o peso ideal para a manifestação da puberdade (MARSON et al., 2004). O aparecimento da puberdade está associado à condição alimentar sob a qual são mantidas as bezerras após o desmame, ou seja, está relacionada ao desenvolvimento corporal sendo mais precoce nos animais mantidos em melhores condições nutricionais (GRUNERT & GREGORY, 1984). Segundo SCHILLO et al. (1992) o início da

puberdade ocorre quando as novilhas alcançam 40 a 50% do seu peso corporal adulto. Assim, o peso ideal para reprodução de novilhas, é uma medida fundamental para o sucesso reprodutivo desta categoria (QUADROS & LOBATO, 2004).

A habilidade de um animal em manter elevada a frequência da pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH) está relacionada ao seu estado metabólico, isto é, à sua reserva energética (SCHILLO, 1992). Diante disso a restrição nutricional prolongada retarda o inicio da puberdade e prejudica a atividade reprodutiva de novilhas púberes, atuando diretamente na supressão da liberação de LH, que é fundamental no crescimento dos folículos ovarianos até o estágio pré ovulatório (YELICH et al., 1996).

4. CONCLUSÃO

Conclui-se com o presente estudo que novilhas girolando púberes e pré-púberes não responderam ao protocolo de sincronização da ovulação.

REFERÊNCIAS

ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P. et al. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergency of follicular waves in heifers. Journal of Reproduction and Fertility, v.94, p.177-188,1992.

AHMAD, N.; SCHRICK, F.N.; BUTCHER, R.L. et al. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. Biology of Reproduction, v.52, p.1129-1135, 1995.

ALMEIDA NETO, J. R. M. DE, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. Dinâmica ovariana em vacas magras com anestro e taxa de prenhez com IATF em vacas leiteiras mestiças de diferentes escores de condição corporal. Orientador: Eduardo Paulino da Costa. Coorientadores: Ademir de Moraes Ferreira, José Domingos Guimarães e Bruno Campos de Carvalho.

AYRES, H. Validação do escore de condição corporal e seu impacto na eficiência reprodutiva de vacas Nelore (Bos indicus) inseminadas em tempo fixo. São Paulo, 2008. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BARUSELLI, P.S., BÓ, G.A., REIS, E.L., MARQUES, M.O.. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2004, Londrina. Anais do 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada 2004;1:155-65.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. Animal Reproduction Science, v.82-83, p.479-486, 2004a.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; CARVALHO, N.A.T.; CARVALHO, J.B.P. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (Bos indicus) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION-ICAR, 1., 2004, Porto Seguro. Proceedings... 2004c.

BERGFELD, E. D.; KOJIMA, N.; WEHRMAN, M. F.; CUPP, A. S.; PETERS, K. E.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; KITTOK, R. J.; GARCIA-WINDER, M.; KINDER, J. E. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17β-oestradiol concentrations in cows is related of concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source. Animal Reproduction Science, v. 37, n. 3-4, p. 257-265, 1995.

BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potenciates a prolonged progesterone-induced supression of LH release in ovariectomised cows. Animal Reproduction Science, v. 45, p. 13-28, 1996.

CARVALHO, J.B.; CARVALHO, N.A.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in Bos

- indicus, Bos indicus x Bos taurus, and Bos taurus heifers. Theriogenology. v. 69; p. 167-75, 2008.
- DAY, M.L.; IMAKAWA K.; WOLFE P.L.; KITTOK R.J.; KINDER J.E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of Hypothalamo-Pituitary estradiol receptors in the negative feedback or estradiol on luteinizing hormone secretion. Biology of Reproduction, v.37, p. 1054-1065,1987.
- EVANS, A. C. O., CURRIE, W. D., RAWLINGS, N. C. Effects of naloxone on circulating gonadotrophin concentrations in prepubertal heifers. Journal of Reproduction and Fertility, v. 96, p. 847 855, 1992.
- FERREIRA, M. B. D., LOPES, B. C., DANTAS, M. S., MOURÃO, G. B., VALE FILHO, V. R. Escore do aparelho reprodutivo pré estação de monta em novilhas Zebu aos dois anos de idade. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 23, p. 160 162, 1999.
- GOTTSCHALL, C. S.; BITTENCOURT, H. R.; MATTOS, R. C.; GREGORY, R. M. Antecipação da aplicação de prostaglandina, em programa de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. v.10, n.4, p.970-979 out./dez. 2009.
- GOTTSCHALL, C. S.; ALMEIDA, M. R.; MAGERO, J.; TOLOTTI, F. Fatores Associados à Fertilidade da Fêmea Bovina Submetida à IATF. Anais do XIV Ciclo de Palestras em Produção e Manejo de Bovinos. Canoas, p.89-101, 2011.
- GOTTSCHALL, C. S.& SILVA, L. R. da, Resposta reprodutiva de novilhas de corte aos dois e três anos de idade submetidas a diferentes protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Revista Veterinária em Foco, v.10, p. 16-25, n.1, jul./dez. 2012.
- GRUNERT, E.; GREGORY, M.R., Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca. 2 ed. Porto Alegre: Sulina, 1984. p.163.
- HONARAMOOZ, A. et al. Opioidergic. dopaminérgico and adrenérgico regulation of LH secretion in pré-pubertal heifers. Journal of Reproduction and Fertility, v. 119, p. 207-215, 2000.
- IBGE. Censo agropecuário. Brasília: Estatatística Agropecuária, 2012. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/bras il/tabela1brasil.shtm. Acesso 21/11/14.
- IBGE. Censo agropecuário. Brasília: Estatatística Agropecuária, 2013. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/bras il/tabela1brasil.shtm. Acesso 21/11/14.
- LARSON, S.F.; BUTLER, W.R.; CURRIE, W.B. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. Journal of Dairy Science, v.80, p.1288-1295, 1997.

- MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; FRAY, M.D. Plasma estradiol and progesterone during early-pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. Animal Reproduction Science, v.37, p.121-131, 1995.
- MARSON, E. P.; GUIMARÃES, J.D.; MIRANDA NETO, T. Puberdade e maturidade sexual em novilhas de corte. Ciência Animal, 17(2):83-89,2007 89. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 28, p, 1-64, 2004.
- MENDONÇA, F. & DANNI-OLIVEIRA, I.M. Climatologia: noções básicas e climas do Brasil. São Paulo: Oficina de Textos, 2007. 206 p.
- MORAN, C. et al. Puberty in heifers: a reveiw. Animal Reproduction Science, v.18, p 167-182, 1989.
- OJEDA, S. R.; URBANSKI, H. F. Puberty in the rat. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. The physiology of reproduction. New York: Raven Press, 1994. 1878 p.
- PURSLEY, J. R., KOSOROK, M. R., WILTBANK, M.C., Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation. Journal of Dairy Science, V. 80, No. 2, p. 301-306, 1997.
- QUADROS, S. A. F., LOBATO, J. F. P. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 33, n. 3, p. 679 683, 2004.
- RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI P.M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. Animal Reproduction Science, v.78, p.259-270, 2003.
- REVAH, I.; BUTLER, W.R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. Journal of Reproduction and Fertility, v.106, p.39-47, 1996.
- ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W.; STUMPF, T.T. et al. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. Biology of Reproduction, v.41, p.997-1003, 1989.
- SÁ FILHO, M. F.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. Effect of different ovulation inductors on pregnancy rates of Nelore (Bos indicus) heifers synchronized to fixed time artificial insemination. International Symposium on animal Biology of Reproduction, 2008.
- SCHILLO, K.K.; HALL, J.B.; HILEMAN, S.M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. Journal of Animal Science, v.70, p.3994-4005, 1992.
- SCHILLO, K.K. Effects os dietary energy on control of luteining hormone secretion in cattle and sheep. Journal of Animal Science, v.70, p.1271-1282, 1992.
- WOLFE, M. W. et al Modulation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in circulation by interactions between endogenous opioids and oestradiol during the peripubertal period of heifers. Journal of Reproduction and Fertility, v. 96, p. 165-174, 1992.

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