

REGULAÇÃO NUTRICIONAL DA PUBERDADE

*M. Maquivar & M. L. Day
The Ohio State University*

INTRODUÇÃO

A idade à puberdade tem importante impacto sobre a eficiência produtiva, reprodutiva e econômica de fêmeas bovinas. A ocorrência deste evento fisiológico implica em que a taxa de crescimento e o desenvolvimento do animal sejam adequados, de forma a dar suporte aos mecanismos endócrinológicos que resultam na maturidade sexual. A idade à puberdade e à primeira concepção irá influenciar a produtividade de toda a vida dos animais, refletida no número de bezerros (Bagley, 1993). Apesar da importância desta característica, os sinais metabólicos que ativam os mecanismos endócrinos que desencadeiam a puberdade são ainda desconhecidos. A puberdade tem sido definida como a manifestação da competência reprodutiva, com a capacidade de ovular um ovócito acompanhado pelo comportamento estral e o desenvolvimento e manutenção de um corpo lúteo funcional (Kinder et al, 1987). Em bovinos, como em outras espécies, a maturação do eixo reprodutivo ocorre de forma gradativa e está associada a alterações na composição corporal e no eixo somatotrópico, que regula o status metabólico do animal. Ainda que as alterações nos mecanismos reprodutivos que levam à puberdade tenham sido bem estabelecidas, os sinais metabólicos que modulam os processos de maturação sexual não são bem conhecidos.

CRESCIMENTO APÓS O DESMAME E IDADE À PUBERDADE

A idade em que os bovinos alcançam a puberdade pode estar associada a fatores genéticos e nutricionais. O ganho de peso após o desmame é uma importante variável que influencia a idade e o peso à puberdade (para revisão, ver Patterson et al., 1992). A influência de diferentes dietas do período após o desmame sobre a idade à puberdade tem sido amplamente investigada. A taxa de crescimento entre o desmame tradicional (6 a 8 meses de idade) e a puberdade estava negativamente associada com a idade à puberdade (Smith et al. 1976). Os pesos alvo à cobertura foram desenvolvidos para refletir estas relações, e sugerem que as novilhas devem alcançar um peso específico no início da estação de monta para conseguir altas taxas de prenhez (Lamond, 1970, Wiltbank, 1969). Relatos iniciais estabeleceram que, para assegurar altas taxas de prenhez, as novilhas devem ser alimentadas para alcançar de 60 a 65% do projetado como seu peso adulto, antes de sua primeira estação de monta (Lamond 1970; Taylor e Fitzhugh, 1971). Ferrell (1982) avaliou o efeito do arraçãoamento para alcançar diferentes GMD (baixo 0,4 kg/d, médio 0,6 kg/d e alto 0,8 kg/d) em diversas raças de bovinos de corte. Foi demonstrado que tanto a raça como o GMD pós-desmame eram fontes significativas de variação para a idade e o peso à puberdade. Entre as diversas raças, novilhas alimentadas para alcançar o GMD mais baixo tendiam a ser mais velhas e mais leves à puberdade. Mais recentemente, Thallman et al. (1999) pesquisaram o efeito da raça sobre o peso à puberdade em diferentes raças nos Estados Unidos. Entre as várias raças, idade e peso à puberdade foram aproximadamente 357 dias de idade e 320 kg de PC (peso corporal), ainda que fossem notadas diferenças entre as raças nas duas variáveis. A nutrição pós desmame desempenha papel crítico na determinação da idade à puberdade em novilhas.

INFLUÊNCIA DA TAXA DE CRESCIMENTO PRÉ-DESMAME SOBRE A IDADE À PUBERDADE

Ainda que menos ênfase tenha sido dada à influência da taxa de crescimento pré-desmame sobre a puberdade, foi demonstrado que esta também é uma importante fonte de variação. Wiltbank et al. (1966) demonstraram que o ganho de peso corporal antes do desmame influenciou a idade à puberdade em novilhas de forma mais consistente do que o ganho de peso pós-desmame, sendo que o maior ganho de peso pré-desmame resultou em início mais precoce da puberdade. Outros pesquisadores também observaram que maior peso ao desmame resultou em redução na idade à puberdade (Arije e Wiltbank, 1971; Greer et al, 1983). Recentemente, Roberts et al (2007) verificaram que a idade à puberdade é mais afetada pela taxa de crescimento no pré-desmame e nas fases iniciais após o desmame (~8 meses de idade) do que o crescimento no período imediatamente antes da cobertura.

ALTERAÇÃO DA NUTRIÇÃO PRÉ-DESMAME E A PUBERDADE PRECOCE EM NOVILHAS

A influência da taxa de crescimento pré-desmame sobre a idade à puberdade em novilhas com manejo convencional (isto é, desmamadas com aproximadamente 7 meses de idade) está bem estabelecida. Vários anos atrás, entretanto, observamos que uma proporção significativa de novilhas tinha alcançado a puberdade com 7 a 8 meses de idade quando eram desmamadas precocemente e alimentadas com uma dieta rica em concentrados, a partir de 3 a 4 meses de idade (Day e Anderson, 1998). Esta observação casual levou à hipótese de que o eixo reprodutivo poderia ser ativado precocemente utilizando uma dieta rica em concentrados a partir de 3 meses de idade, aproximadamente, no arraçamento de novilhas de corte. Iniciamos uma série de estudos desenhados para avaliar o impacto da dieta, com início depois do desmame com 3 to 4 meses de idade, sobre a indução da puberdade precoce (antes de 300 dias de idade) e as alterações no eixo reprodutivo que resultam neste evento prematuro.

O objetivo primário deste primeiro estudo (Gasser et al, 2006a; EXPT 1) foi testar a hipótese apresentada no parágrafo anterior e verificar observações anteriores de puberdade precoce. Para tanto, dezoito novilhas foram desmamadas com 73 ± 3 dias de idade (desmame precoce; DP) e 115 ± 3 kg de PC. Depois de um período de 20 dias, as novilhas foram designadas para receber uma das duas dietas do estudo. A dieta controle (C) (Tabela 1) consistia sobretudo de volumoso, e foi formulada para alcançar um ganho de PC (0,75 kg/d) similar ao que teria sido conseguido se as bezerras tivessem permanecido no pasto com suas mães. Esta dieta foi formulada para ser administrada a aproximadamente 2,5% do PC. A dieta rica em concentrados (R) (Tabela 1) foi similar à administrada anteriormente, quando foi observada a indução à puberdade precoce (Day e Anderson, 1998), e foi formulada para permitir um ganho de PC alvo de 1,5 kg/d quando administrada na taxa de 2,5% de PC. As novilhas foram alimentadas individualmente e os consumos ajustados para tentar alcançar o GMD alvo. As novilhas no tratamento DPR receberam a dieta R durante todo o experimento enquanto que as no tratamento DPC receberam a dieta C de 99 a 286 dias de idade, e a dieta R depois disso (Figura 1). O GMD conseguido durante a fase experimental do estudo (99 a 286 dias de idade) foi $1,27 \pm 0,05$ kg/d para o tratamento DPR e $0,85 \pm 0,05$ kg/d para o tratamento DPC. Oito das nove novilhas no tratamento DPR tiveram puberdade precoce, enquanto que nenhuma das novilhas no tratamento DPC alcançou a puberdade antes dos 300 dias de idade (Figura 2, Tabela 2). As novilhas no tratamento DPR alcançaram a puberdade com PC menor do que no tratamento DPC (Figura 3).

Nos 3 experimentos subsequentes (Gasser et al., 2006b, EXPT 2; 2006c, EXPT 3; 2006d, EXPT 4) foram observadas diferenças similares na idade à puberdade (Tabela 2) entre as novilhas que receberam os tratamentos DPC e DPR descritos para o EXPT 1. Contudo a proporção de novilhas que apresentou puberdade

precoce teve alguma variação entre os experimentos. Uma observação inesperada foi que 56% das novilhas no tratamento DPC do EXPT 2 teve puberdade precoce. Os recursos nutricionais do pasto no período anterior ao desmame precoce eram excelentes durante o ano em que este experimento foi conduzido, e as novilhas que participaram do experimento tinham aproximadamente 35 kg a mais com cerca de 100 dias de idade do que as novilhas usadas no 3 outros estudos. Especulamos que o plano nutricional proporcionado a estas bezerras e suas mães, durante os primeiros meses de vida e antes do desmame precoce, foi uma fonte potencial de estimulação para a ocorrência de puberdade precoce em algumas novilhas. Na verdade, a puberdade precoce espontânea foi verificada em uma proporção significativa de novilhas desmamadas com 6 a 8 meses de idade (Wehrman et al., 1996). Como era esperado, o GMD foi maior com o tratamento DPR do que com DPC em todos os experimentos (Figura 4). Ainda que o PC à puberdade tenha sido menor no tratamento DPR do que no DPC no EXPT 1, esta relação não foi detectada em estudos subsequentes (Figura 4).

Tabela 1. Dietas experimentais dadas às novilhas^a.

Item	Dieta ^b	
	H	C
Ingrediente, % as-fed		
Milho debulhado integral	60	30
Pellets de alfafa 13% PB	10	30
Casca de soja peletizada	10	30
Suplemento ^b	20	10
Análises químicas		
PB, %	14,1	14,1
NEm, Mcal/kg	2,02	1,70
NEg, Mcal/kg	1,37	1,09

^aDietas usadas por Gasser et al., 2006a, 2006b, 2006c e 2006d.

^bR = dieta rica em concentrados; C = dieta controle.

Tabela 2. A porcentagem de novilhas que apresentaram puberdade precoce e idade à puberdade^a.

Experimento	n	Desmame precoce, dieta rica em concentrados (DPR)		Desmame precoce, dieta controle (DPC)	
		% Puberdade precoce	Idade à puberdade (d)	% Puberdade precoce	Idade à puberdade (d)
EXPT 1	18	89 (8/9)	262 ± 10	0 (0/9)	368 ± 10
EXPT 2	18	100 (9/9)	252 ± 9	56 (5/9)	308 ± 26
EXPT 3	10	80 (4/5)	275 ± 30	0 (0/5)	385 ± 14
EXPT 4	30	67 (10/15)	271 ± 17	20 (3/15)	331 ± 11

^aDados de Gasser et al, 2006a, EXPT 1; 2006b, EXPT 2; 2006c, EXPT 3; e 2006d, EXPT 4.

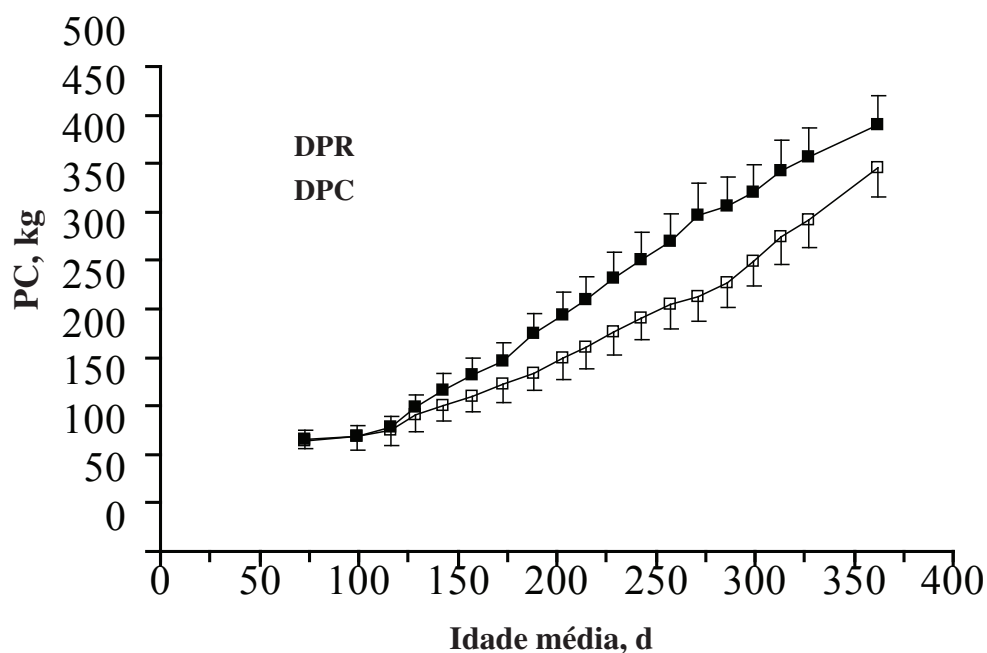


Figura 1. Ganho de peso corporal em novilhas que foram desmamadas precocemente e arraçoadas com uma dieta rica em concentrados (DPR) ou a dieta controle (DPC). Adaptado de Gasser et al., 2006a, *Journal of Animal Science*. 84:2035- 41.

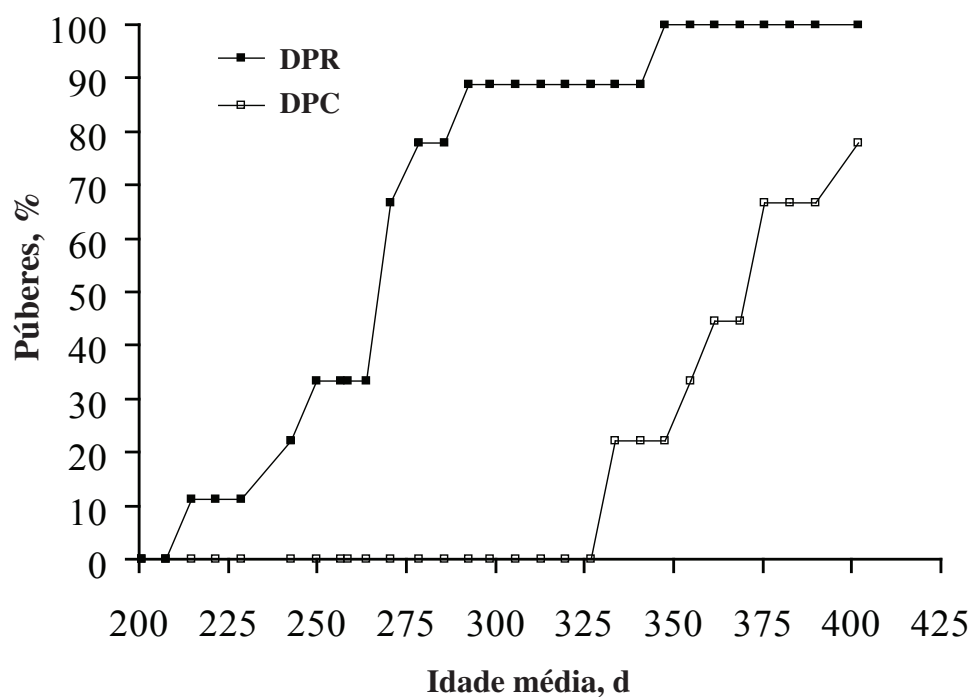


Figura 2. Porcentagem acumulada de novilhas que alcançaram a puberdade quando desmamadas precocemente e arraçoadas com uma dieta rica em concentrados (DPR) ou a dieta controle (DPC). Adaptado de Gasser et al., 2006a, *Journal of Animal Science*. 84:2035- 41.

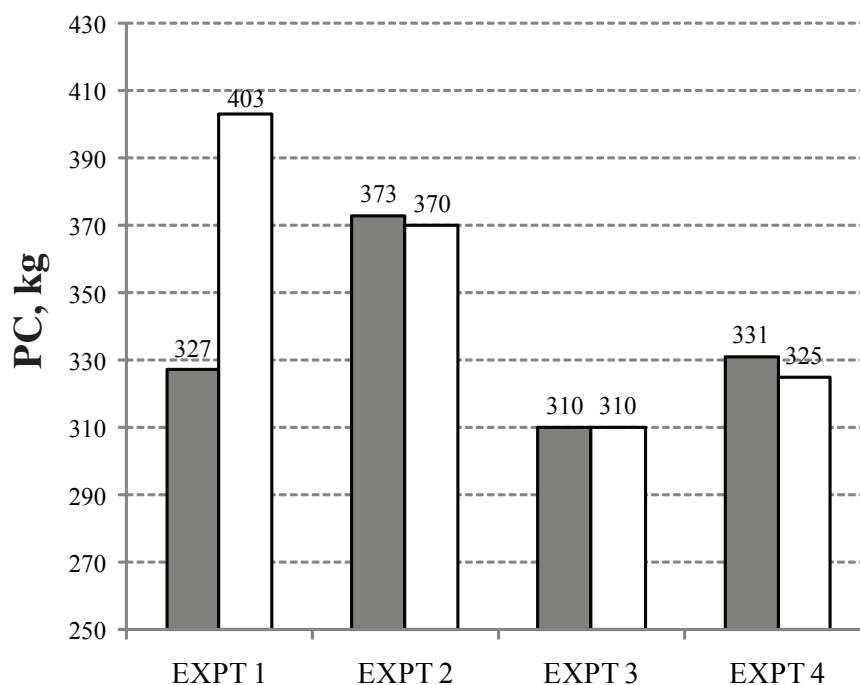


Figura 3. Peso corporal à puberdade em novilhas que foram desmamadas precocemente e arraçadas com uma dieta rica em concentrados (DPR; barras escuras) ou a dieta controle (DPC; barras brancas). In: Gasser et al., 2006a (EXPT 1), 2006b (EXPT 2), 2006c (EXPT 3) e 2006d (EXPT 4).

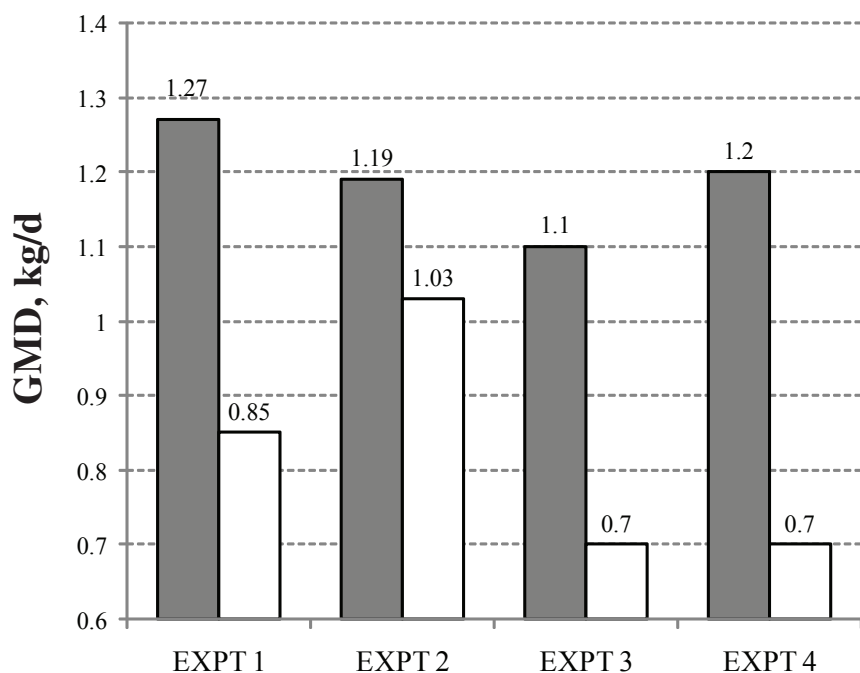


Figura 4. Ganho médio diário durante o experimento de novilhas desmamadas precocemente e arraçadas com uma dieta rica em concentrados (DPR; barras escuras) ou a dieta controle (DPC; barras brancas). In: Gasser et al., 2006a (EXPT 1), 2006b (EXPT 2), 2006c (EXPT 3) e 2006d (EXPT 4).

No EXPT 2 (Gasser et al., 2006b), foi incluído um tratamento que consistia em novilhas que permaneciam com suas mães até o desmame com 208 ± 3 dias de idade e 276 ± 7 kg de PC (desmame normal; DN). Foram então alimentadas com a dieta C pós-desmame (tratamento DNC). O objetivo era determinar se a idade ao desmame era uma fonte significativa de variação. Neste estudo, as novilhas dos tratamentos DPC e DNC tiveram um GMD similar ($1,03 \pm 0,05$ kg/d e $1,07 \pm 0,03$ kg/d respectivamente) e a idade à puberdade e a incidência de puberdade precoce não foi diferente entre os tratamentos DPC (308 ± 26 dias de idade; 56%) e DNC (330 ± 25 dias de idade; 50%). Assim sendo, grandes diferenças no momento do desmame e diferenças de composição da dieta (DPC - dieta controle, DNC - leite e pasto, seguido pela dieta C) não pareceu influenciar a taxa de maturação sexual das novilhas que cresciam a uma taxa típica e similar.

No EXPT 4 (Gasser et al., 2006d), além dos tratamentos DPC e DPR foram incluídos dois outros para testar a influência do momento em que a dieta R começou a ser usada sobre a ocorrência de puberdade precoce. As dietas foram iniciadas com 126 dias de idade e o experimento foi dividido em duas fases de arração. A fase 1 foi de 126 a 196 dias de idade e a Fase 2 de 196 dias de idade até o final do experimento. As novilhas dos tratamentos DPC e DPR receberam as dietas durante as duas fases. Outras novilhas receberam a dieta R na Fase 1 e a C dieta na Fase 2 (DPR-C), enquanto que novilhas no quarto tratamento receberam a dieta C na Fase 1 e a dieta R na Fase 2 (DPC-R). As alterações no peso corporal ao longo do experimento são ilustradas na Figura 5. A incidência de puberdade precoce variou de 67% no tratamento DPR a 20% no DPC (Tabela 3). A idade à puberdade não foi diferente nos tratamentos DPR e DPR-C (Tabela 3) e foi mais precoce do que no tratamento DPC. A idade à puberdade no tratamento DPC-R foi intermediária em relação aos outros tratamentos mas não diferente. Comparando os tratamentos, as novilhas arraçoadas com dieta R durante a Fase 1 alcançaram a puberdade mais cedo do que as novilhas arraçoadas com a dieta C durante a Fase 1. Concluiu-se que o desmame precoce e a dieta rica em energia, Dieta R, usada durante aproximadamente 4 a 7 meses de idade em novilhas adiantou a idade à puberdade, independente da dieta utilizada depois de 7 meses de idade.

Tabela 3. Porcentagem de novilhas que apresentaram puberdade precoce e idade à puberdade^a.

Variável Reprodutiva			
Tratamento	n	% Puberdade precoce	Idade à puberdade (d)
DPR	15	67 (10/15)	271 ± 17
DPR-C	15	47 (7/15)	283 ± 17
DPC-R	15	47 (7/15)	304 ± 13
DPC	15	20 (3/15)	331 ± 11

^aAs novilhas foram desmamadas precocemente e arraçoadas com uma dieta rica em concentrados (R) durante todo o experimento (DPR), a dieta R durante a Fase 1 e a dieta controle (C) durante a Fase 2 (DPR-C), a dieta C durante a Fase 1 e a dieta R durante a Fase 2 (DPC-R) ou a dieta C durante todo o experimento (DPC). A Fase 1 foi de 126 a 196 dias de idade e a Fase 2 de 196 dias de idade até o final do experimento (Gasser et al., 2006d).

Com base nos achados destes 4 experimentos, aceitamos a nossa hipótese de que o uso de uma dieta com alto nível de energia, à base de concentrados, no arração de novilhas desmamadas com 3 a 4 meses de idade irá induzir a puberdade precoce na maioria das novilhas. Em todos os experimentos, a puberdade precoce ocorreu esporadicamente em novilhas alimentadas com a dieta controle, e a incidência desta puberdade precoce espontânea pareceu estar relacionada com o status nutricional das bezerras até o momento do desmame precoce. Coerente com esta especulação, a utilização de uma dieta rica em energia do desmame precoce até aproximadamente 200 dias de idade teve um impacto similar sobre a idade à puberdade ao do uso desta dieta

até 11 a 12 meses de idade. Assim, o sinal que induz a ativação precoce do eixo reprodutivo pode ocorrer numa fase inicial da vida das novilhas e, em alguns casos, antes da idade em que o desmame precoce foi realizado nos experimentos descritos acima. Esta série de experimentos sugere a existência de um momento crítico em que o manejo nutricional pode induzir a ativação do eixo reprodutivo e, conseqüentemente, o início dos ciclos reprodutivos. Ainda não foram identificados os sinais específicos, da dieta ou metabólicos, que promovem esta resposta e esta questão é o foco de um experimento que está em andamento.

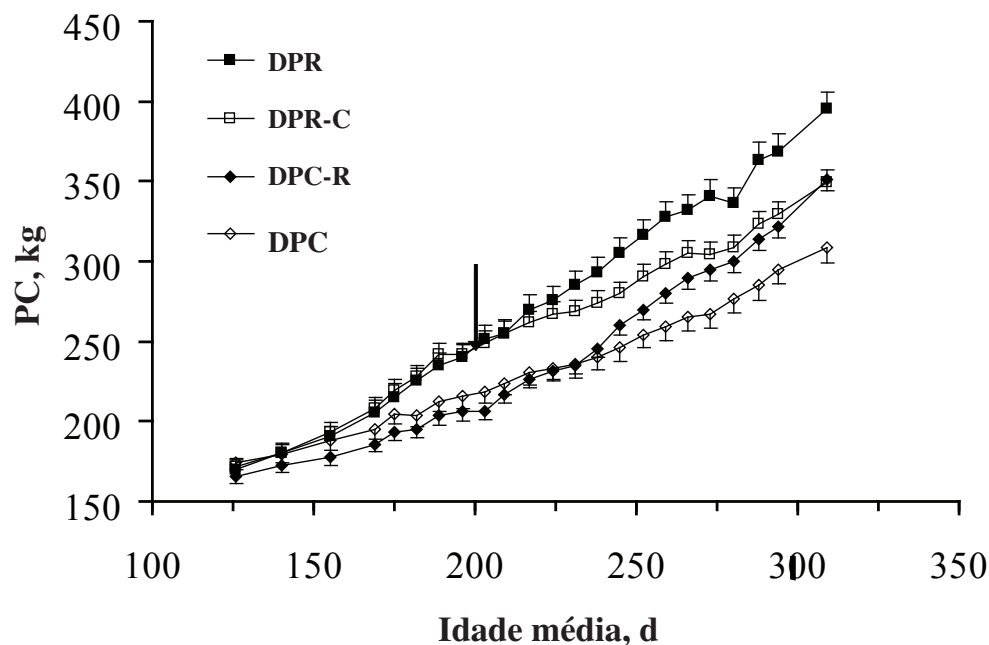


Figura 5. Ganho de peso corporal em novilhas desmamadas precocemente e arraçoadas com uma dieta rica em concentrados (R) durante todo o experimento (DPR); a dieta R durante a Fase 1 e a dieta controle (C) durante a Fase 2 (DPR-C); a dieta C durante a Fase 1 e a dieta R durante a Fase 2 (DPC-R) ou a dieta C durante todo o experimento (DPC). As fases são indicadas pela seta (Fase 1, 126 a 196 dias de idade; Fase 2, 196 dias de idade até o final do experimento). Adaptado de Gasser et al., 2006d, *Journal of Animal Science*. 84:3118-3122.

Um experimento em andamento (Maquivar et al., não publicado) tem como objetivo testar as influências qualitativas do uso de dieta rica em energia no arraçoamento de novilhas sobre a idade e o PC à puberdade, avaliando o impacto destas dietas sobre variáveis metabólicas e reprodutivas. Trinta e seis animais foram desmamados com uma idade média de 80 dias de idade e 120 kg de PC. Depois de um período de 21 d, foi feita a transição dos animais para uma das três dietas experimentais (Tabela 4). Estas dietas tinham alto teor de amido (ALTO-A), similar à dieta R usada em experimentos anteriores; baixo teor de amido (BAIXO-A), em que uma alta proporção da dieta era composta de rações ricas em energia e pobres em amido (grãos secos de destilaria e casca de soja), e uma dieta controle à base de volumoso (CONT). O GMD alvo para as dietas ALTO-A e BAIXO-A foi 1,50 kg/d, e 0,75 kg/d para a dieta CONT. As dietas foram formuladas para que os animais recebessem aproximadamente 2,5% do PC. A ração consumida foi ajustada para alcançar o GMD desejado para o tratamento. Nenhuma das novilhas no tratamento CONT apresentou puberdade precoce, enquanto que uma proporção similar de novilhas nos tratamentos BAIXO-A (42%) e ALTO-A (60%) tiveram puberdade precoce (Figura 6). A idade à puberdade foi maior com o tratamento CONT (377 ± 26 d) do que no BAIXO-A (269 ± 69 d) e ALTO-A (262 ± 56 d). Durante todo o experimento, o ganho médio diário e o PC não foram diferentes entre os tratamentos BAIXO-A e ALTO-A, e ambos foram maiores do que o GMD e o PC no tratamento CONT (Figura 7). Estes resultados sugerem que o efeito quantitativo da dieta (teor de energia proporcionado às novilhas) parece ser mais importante do que os aspectos qualitativos das duas dietas com alto nível de energia usadas neste experimento.

Tabela 4. Composição das dietas experimentais das novilhas (% matéria natural).

Item	Dietas ^a		
	ALTO-A	BAIXO-A	CONT
Milho debulhado integral	50,00	-	-
Feno de Datilis	30,00	23,00	70,00
Grãos secos de destilaria		37,00	-
Casca de soja	-	20,00	-
Suplemento	20,00	20,00	30,00
Análise química			
CP, %	15,99	16,14	12,85
Amido,%	46,40	14,48	19,03
Gordura,%	4,03	6,43	3,73
NEm, Mcal/kg	1.830	1.836	1.398
NEg, Mcal/kg	1.198	1.197	0,813

^aALTO-A = dieta com alto teor de amido, BAIXO-A = dieta com baixo teor de amido, CONT = dieta controle.

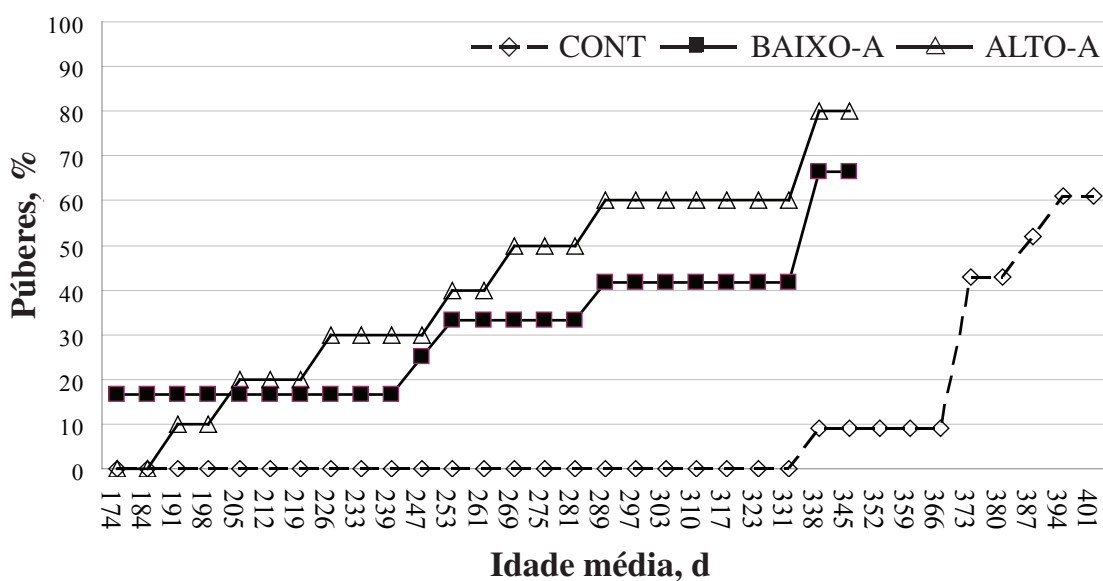


Figura 6. Porcentagem acumulada de novilhas púberes arraçoadas com a dieta controle (CONT), dieta com alto teor de energia, baixo teor de amido (BAIXO-A) ou a dieta com alto teor de energia, alto teor de amido (ALTO-A).

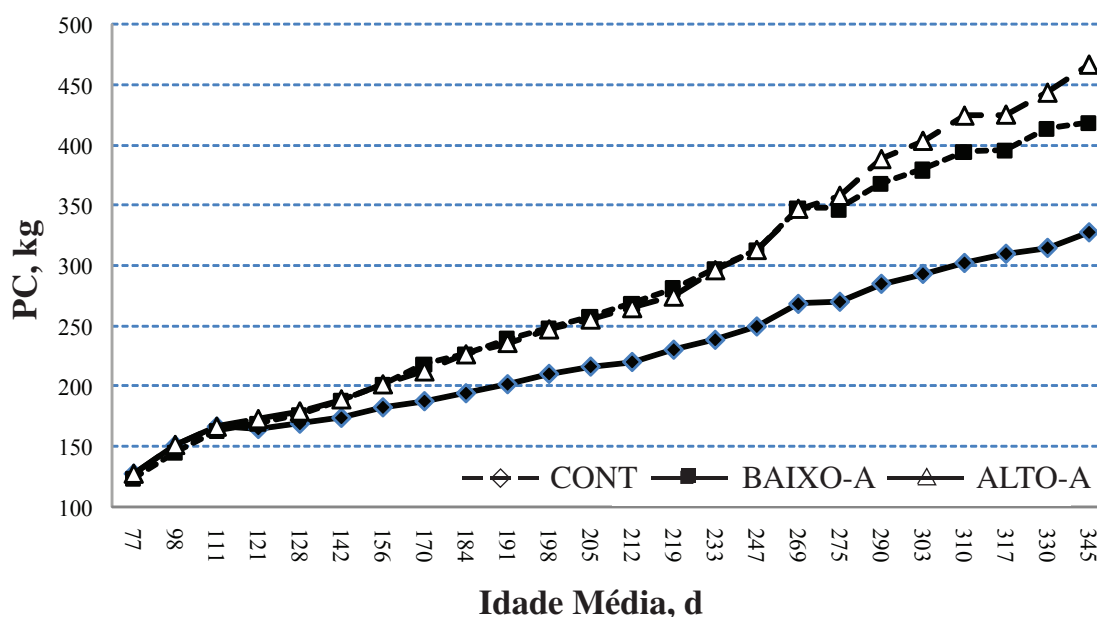


Figura 7. Taxa de crescimento novilhas pré-púberes arraçoadas com a dieta controle (CONT), dieta com alto teor de energia, baixo teor de amido (BAIXO-A) ou a dieta com alto teor de energia, alto teor de amido (ALTO-A).

ENDOCRINOLOGIA DA PUBERDADE PRECOCE

Do ponto de vista endócrino, a ocorrência da puberdade é o resultado da diminuição no feedback negativo do estradiol sobre a secreção de hormônio luteinizante (LH), que leva a aumento na secreção de LH em resposta a aumento na liberação de GnRH pelo hipotálamo (Rodriguez e Wise, 1989), e também o crescimento final e maturação dos folículos ovarianos levando à primeira ovulação (Figura 8; Day et al., 1984; Day et al., 1986, Kinder et al., 1987). O período de 40 a 60 d antes da primeira ovulação, quando ocorre a maioria destas alterações dinâmicas, é denominado período peripuberdade. A época em que o período peripuberdade ocorre nas novilhas varia com a idade à puberdade, mas parece iniciar-se entre 10 a 12 meses de idade na maioria das novilhas *Bos taurus* com bom manejo. Propusemos que o período do nascimento até a puberdade nas novilhas pode ser dividido em 4 períodos, começando com um período infantil (nascimento até 2 meses de idade), período de desenvolvimento (2 a 6 meses de idade), uma fase estática (6 a 10 meses de idade) e o período peripuberdade (Day e Anderson, 1998; Figura 9). Como descrito anteriormente, a utilização de uma dieta com alto nível de energia durante a de desenvolvimento acelera a puberdade. Durante esta fase, ocorrem alterações dinâmicas no eixo reprodutivo (para revisão, ver Day e Anderson, 1998). A maior secreção de GnRH pelo hipotálamo leva a maior secreção de LH. A elevação da secreção de gonadotropina estimula o crescimento folicular e resulta em maiores concentrações periféricas de estradiol. A presença de feedback negativo do estradiol sobre a secreção de LH é verificada pela diminuição na secreção de LH com 3 a 6 meses de idade, como resposta à maior produção de estradiol pelos folículos ovarianos. Depois deste período de desenvolvimento, a secreção de LH é estabilizada em um nível relativamente baixo aos 6 meses de idade, marcando o início da fase estática nas novilhas. Durante esta fase, o eixo hipotálamo-hipófise está totalmente competente, mas não é capaz de gerar níveis de secreção de LH da fase folicular, devido à restrição representada pelo feedback negativo do estradiol. A diminuição no feedback negativo do estradiol da peripuberdade resulta em aumento da secreção de LH, e portanto na secreção de estradiol, pico inicial de LH e ovulação.

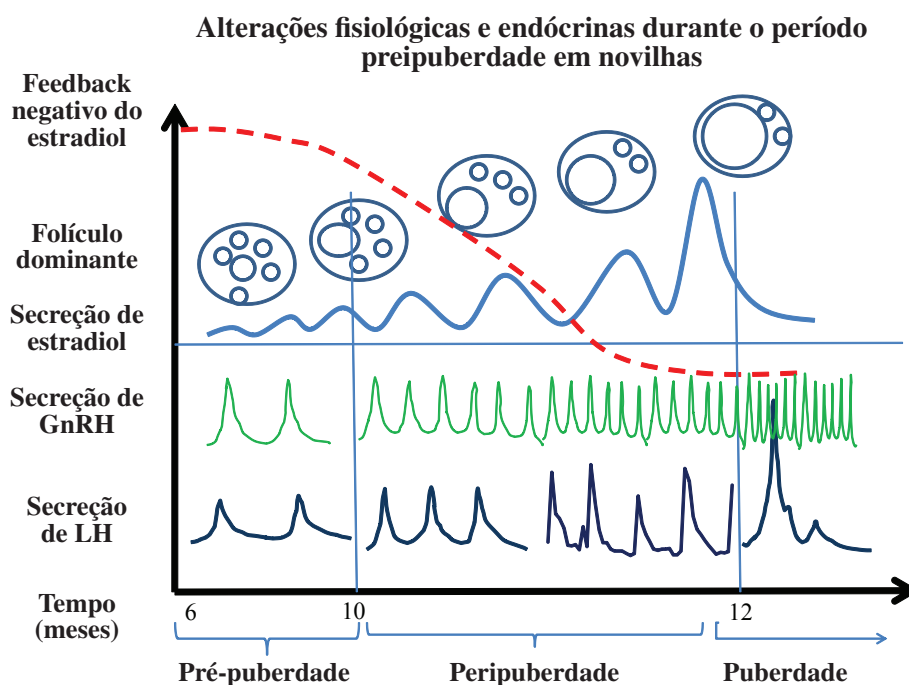


Figura 8. Alterações endócrinas durante o período peripuberdade em novilhas. Este período inclui os 50 a 60 d que precedem a puberdade em novilhas. A linha pontilhada representa o feedback negativo do estradiol sobre a secreção de LH. A secreção de GnRH é altamente sensível ao feedback negativo de estradiol durante o período pré-puberdade. Com o início do período peripuberdade e a diminuição a ele associado do feedback negativo de estradiol, há um aumento da secreção de GnRH e, portanto, do LH, resultando em um aumento do crescimento e secreção de estradiol pelos folículos ovarianos dominantes. Como resultado da queda progressiva no feedback negativo de estradiol e aumento da secreção de LH durante o período peripuberdade, as concentrações de estradiol eventualmente alcançam níveis suficientes para induzir o pico de LH da puberdade.

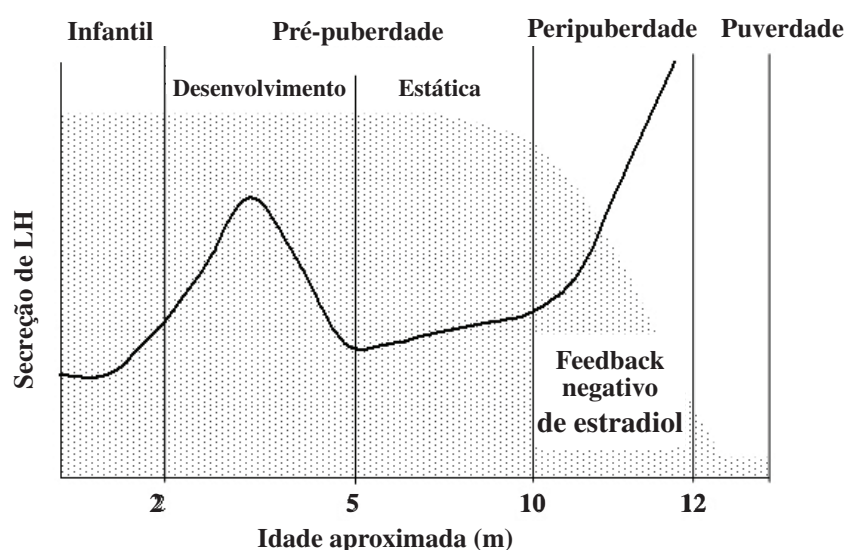


Figura 9. Modelo para os estágios de maturação sexual em novilhas. A área sombreada indica a sensibilidade da secreção de GnRH frente ao feedback negativo de estradiol. A mudança dos padrões de LH durante o período pré-púbere é resultado do aumento de secreção de GnRH seguida pelo aumento da produção de estradiol pelos folículos ovarianos. O aumento do LH na peripuberdade é o resultado de uma diminuição do feedback negativo de estradiol sobre o LH. Adaptado de Day & Anderson, (1998) Journal of Animal Science. 76 (Suppl. 3): 1 – 15.

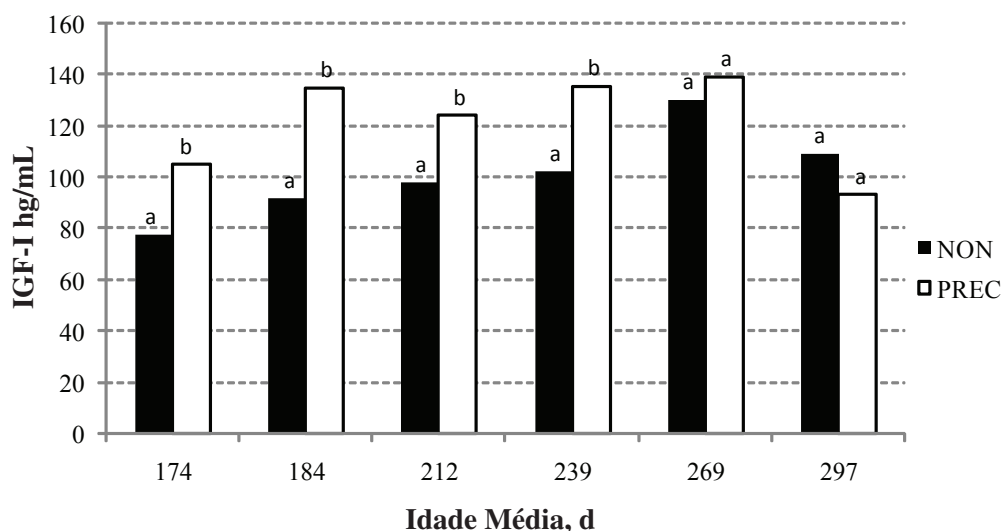


Figura 10. Concentrações séricas de IGF-1 em novilhas que tiveram puberdade precoce (PREC) e as que não tiveram (NON) nos tratamentos ALTO-A e BAIXO-A. Sobrescritos diferentes dentro da mesma idade são diferentes entre si ($P < 0,05$).

Quando as novilhas são desmamadas precocemente e arraçadas com dieta com alto nível de energia, há alteração do momento em que ocorrem os eventos que culminam na puberdade. A nossa hipótese é que as alterações chave que ocorrem entre 10 e 12 meses de idade (período peripuberdade) em novilhas com manejo tradicional, estavam ocorrendo entre 6 e 8 meses em novilhas que foram desmamadas precocemente e arraçadas com uma dieta rica em energia. Em três dos experimentos descritos anteriormente, pesquisamos as alterações em vários componentes do eixo reprodutivo. No primeiro experimento (Gasser et al., 2006a, EXPT 1), determinamos que a secreção de LH era maior no grupo com o tratamento DPR, começando com 190 dias de idade até a época da puberdade. No segundo experimento (Gasser et al., 2006b, EXPT 2), o crescimento folicular foi acentuado pelo tratamento DPR aos 196 dias de idade, como é evidenciado por maior diâmetro do folículo ovariano dominante. No mesmo estudo foi demonstrado que os animais que apresentam puberdade precoce têm folículo ovariano dominante maior, onda folicular mais longa e maiores concentrações de estradiol do que as novilhas que alcançaram a puberdade depois de 300 dias de idade. Estas diferenças já eram evidentes com 120 dias de idade entre as novilhas que tiveram puberdade precoce e as que não tiveram. Finalmente, demonstramos no EXPT 3 (Gasser et al., 2006c) que o momento da diminuição do feedback negativo do estradiol sobre a secreção de LH na peripuberdade era acelerado no tratamento DPR. Concluímos que quando as novilhas são desmamadas precocemente e arraçadas com dieta rica em energia, as alterações na secreção de LH, no desenvolvimento folicular e no feedback negativo do estradiol são similares às que ocorrem em novilhas com manejo tradicional, mas iniciam-se em torno de 6 meses de idade. Parece que com esta manipulação da dieta as novilhas não passam pela fase estática descrita na Figura 9, passando diretamente da fase de desenvolvimento para o período peripuberdade.

O EIXO SOMATOTRÓPICO E ATIVAÇÃO PRECOCE DO EIXO REPRODUTIVO

Sabemos que a utilização de uma dieta com alto nível de energia ativa precocemente o eixo reprodutivo. Parece que este estímulo nutricional é mais profundo entre 3 e 6 meses de idade e não depende de um alto teor de amido na dieta. Radcliff et al, (1997; 2004) avaliaram o efeito de duas dietas diferentes em novilhas

Holandesas de 120 dias de idade até a puberdade. As dietas utilizadas (dieta Alta contendo 75% de grãos e 25% de feno com alto teor de umidade e dieta Controle com 10% de grãos e 90% de feno com alto teor de umidade) foram similares às dietas R e C que usamos na maioria dos nossos experimentos. As novilhas arraçadas com a dieta Alta mostraram a puberdade com 266 ± 9 dias de idade ao passo que a puberdade ocorreu com 313 ± 10 dias de idade quando alimentadas com a dieta Controle (Radcliff et al., 1997). De maneira similar aos nossos achados (Gasser et al., 2006a; 2006b, 2006c e 2006d), o uso de dieta rica em concentrados, rica em energia, em uma fase precoce da vida induziu a puberdade precoce em novilhas leiteiras. Em relato mais recente (Radcliff et al., 2004), os autores apresentaram a resposta do eixo somatotrópico destas novilhas a estas dietas. As novilhas arraçadas com a dieta Alta tinham concentrações periféricas de IGF-1 mais altas e concentrações menores de IGFBP-2 do que as que recebiam a dieta Controle. As concentrações de GH não foram afetadas pela dieta. As concentrações hepáticas de GHR 1A e IGF-1 mRNA, entretanto, estavam aumentadas e a concentração de IGFBP-2 mRNA estava diminuída nas novilhas alimentadas com a dieta Alta, explicando o efeito da dieta sobre as concentrações periféricas de IGF-1 e IGFBP-2. Como há uma sugestão de que IGFBP-2 inibe a atividade de IGF-1, a influência relativa das dietas Alta x Controle sobre IGF-1 pode ser ainda maior do que o refletido pelas concentrações de IGF-1 na circulação. Respostas similares no IGF-1 foram observadas no experimento descrito anteriormente (Maquivar et al., não publicado), em que as novilhas eram arraçadas com a dieta controle (CONT), ou uma das duas dietas ricas em energia que tinham teor alto (ALTO-A) ou baixo (BAIXO-A) de amido (Tabela 4). As concentrações de IGF-1 nas novilhas arraçadas com as dietas ALTO-A e BAIXO-A foram maiores do que nas que foram arraçadas com a dieta CONT. Na maioria dos períodos de amostragem, as concentrações de IGF-1 não foram diferentes entre as dietas ALTO-A e BAIXO-A. Em alguns casos, IGF-1 foi maior no tratamento ALTO-A do que no BAIXO-A. De particular relevância para o suposto papel de IGF-1 na indução da puberdade precoce, as concentrações de IGF-1 foram maiores nas novilhas que apresentaram puberdade precoce, independente da formulação da dieta rica em energia (Figura 10). Estes achados apoiam a possibilidade de que IGF-1 pode desencadear a cascata de eventos que levam à puberdade precoce.

Outros pesquisadores estudaram a influência de IGF-1 sobre a puberdade em novilhas. Trabalhando com novilhas de corte de nove meses de idade até a puberdade, Yelich et al (1996) utilizaram dieta de alto ganho ou dieta de baixo ganho durante 16 semanas, seguida pela dieta de alto ganho. As novilhas que receberam a dieta de alto ganho alcançaram a puberdade com idade menor do que as que receberam a dieta de baixo ganho (369 ± 16 e 460 ± 17 dias de idade, respectivamente). Simpson et al. (1991) avaliaram o efeito da imunização seriada ativa contra o fator de liberação do hormônio de crescimento (GRF) em novilhas de 6 meses de idade. Como esperado, as concentrações de GH foram diminuídas pela imunização. Assim, com cerca de 8 meses de idade as novilhas imunizadas tiveram concentrações muito mais baixas de IGF-1 do que as não imunizadas (41 ± 5 e 112 ± 4 ng/ml, respectivamente). Com 12,9 meses de idade, 81% das novilhas não imunizadas alcançaram a puberdade, enquanto que apenas 40% das novilhas imunizadas eram púberes com esta idade. O impacto da imunização contra GRF começando com 104 dias de idade sobre uma série de características reprodutivas foi pesquisado por Schoppee et al. (1996). Concentrações menores de IGF-1 foram detectadas com 169 dias de idade nas novilhas imunizadas. Com 6 meses de idade, as concentrações séricas de estradiol e as concentrações intrafoliculares de IGF-I eram menores nas novilhas imunizadas do que nas não imunizadas. Com 393 dias de idade, 32% das novilhas imunizadas tinham alcançado a puberdade e 71% das novilhas não imunizadas eram púberes. Estes autores sugerem que a deficiência de IGF-1 induzida pela imunização contra GRF compromete a capacidade dos folículos ovarianos de sintetizar estradiol e, desta forma, atrasa a puberdade.

Nos relatos em que as concentrações pré-puberdade de IGF-1 foram avaliadas, foi mostrado que a idade à puberdade está negativamente associada com as concentrações de IGF-1. Schoppee et al. (1996) relataram que quando as concentrações mais baixas de IGF-1 eram experimentalmente induzidas a partir dos 3 meses de idade, o desenvolvimento folicular estava comprometido aos 6 meses de idade e a puberdade atrasada. Por outro lado, nós (Gasser et al., 2006b) demonstramos que o uso de uma dieta rica em energia que aumentaria

o IGF-1 resultou em um maior desenvolvimento folicular e puberdade precoce. Radcliff et al. (1997; 2004) também demonstraram que a puberdade precoce estava associada com concentrações maiores de IGF-1 e concentrações menores de IGFBP-2. Finalmente, usando dietas com alto nível de energia e de composição acentuadamente diferente, pudemos demonstrar que as novilhas que apresentaram uma puberdade precoce tinham concentrações maiores de IGF-1; independente da dieta (Figura 10).

É provável que os folículos ovarianos sejam o alvo para IGF-1 nas novilhas pré-púberes, uma vez que tanto o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) como as proteínas de ligação a IGF (IGFBP) estão envolvidos na regulação do crescimento e desenvolvimento folicular (Webb et al, 1999; Renaville et al, 2002). No ovário, o IGF-1 aumenta a proliferação e a diferenciação das células da granulosa e promove a síntese de hormônios esteróides através da estimulação do sistema enzimático aromatase (para uma revisão, ver Zulu et al, 2002).

A nossa hipótese de trabalho com relação ao mecanismo que desencadeia a puberdade precoce quando as novilhas são arraçoadas com dieta com alto nível de energia a partir de 3 meses de idade é que o IGF-1 atua nos folículos ovarianos, para induzir maior crescimento, e a produção de estradiol pelos folículos, o que inicia a cascata de eventos endócrinos que resultam na puberdade precoce. No primeiro experimento para testar esta hipótese, será avaliado o impacto da dieta com alto nível de energia na alimentação de novilhas desmamadas precocemente, durante cerca de 50 d, sobre o crescimento folicular, a produção de estradiol e outros aspectos da função folicular.

CONCLUSÕES

Os sinais nutricionais responsáveis pela ativação precoce do eixo reprodutivo são mais importantes entre 3 e 6 meses de idade. Dados recentes relativos a aspectos qualitativos e quantitativos das dietas utilizadas a partir de 3 meses de idade indicam que dietas bastante diferentes em sua composição podem induzir a puberdade precoce. A resposta inicial nesta idade a dieta rica em energia parece ocorrer nos folículos ovarianos. Propõe-se que o aumento no IGF-1 e/ou a diminuição no IGFBP-2 resultantes estimulam as células da granulosa dos folículos ovarianos a secretar mais estradiol. O estradiol, por sua vez, atuará em nível hipotalâmico para acelerar o declínio do feedback negativo do estradiol, resultando em aumento na liberação de GnRH que será refletido em aumento na secreção de LH. Este aumento na secreção de LH irá estimular ainda a maturação folicular, progredindo até o ponto em que estarão presentes concentrações suficientes de estradiol para causar o pico de LH induzido pelo estradiol e a puberdade precoce.

PUBERDADE PRECOCE E BOVINOS *BOS INDICUS*

Os mecanismos essenciais que controlam a puberdade em novilhas *Bos indicus* parecem ser similares aos descritos acima para fêmeas *Bos taurus* (para uma revisão, ver Nogueira, 2004; Galina e Arthur, 1989). Em uma revisão, Abeygunawardena e Dematawewa (2004) relataram que em animais Zebu a idade à puberdade variou de 16 a 40 meses, e a idade à primeira parição variou de 24 a 62 meses. Os intervalos destas variáveis são muito mais amplos para animais Zebu do que para seus equivalentes *Bos taurus* em climas temperados. Magaña e Segura-Correa (2006) relataram que fatores ambientais (como a estação do nascimento) que influenciam as características de crescimento antes e depois do desmame podem ter impacto sobre a idade à puberdade. Uma taxa de crescimento mais baixa está associada a atraso na puberdade de novilhas Zebu (para revisão, ver Plasse, 1978, 1979; Mukassa-Mugerwa, 1989).

Como foi observado em animais *Bos taurus* em climas temperados, algumas novilhas Zebu irão apresentar puberdade precoce. Assim, por exemplo, foi observado em um grupo de novilhas Nelore que 32% estavam

prenhes com 15 meses de idade, e se concluiu que estas novilhas tinham tido puberdade precoce (Nogueira, 2004). O mais importante é que temos conhecimento de um estudo em que uma abordagem similar à usada em nosso programa (isto é, o tratamento DPR) resultou na puberdade precoce em novilhas Zebu. Fajersson et al. (1991) demonstraram que novilhas Zebu submetidas a desmame precoce, com 3 meses de idade, e arraçoadas de forma a obter o GMD típico de novilhas *Bos taurus* em climas temperados, alcançaram a puberdade com 12,3 meses de idade e 233 kg de PC. Por isso, existe a possibilidade de se utilizar uma dieta com alto nível de energia no período apropriado durante a maturação sexual poderia induzir a puberdade precoce em animais *Bos indicus*. Tendo como base o nosso trabalho com bovinos *Bos taurus* parece que as novilhas são mais sensíveis entre 3 e 6 meses de idade para a indução da puberdade precoce com dieta com alto nível de energia. Como há grande disparidade na idade à puberdade entre novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus*, não sabemos se este “período sensível” ocorre com a mesma idade. Com relação aos períodos descritos na Figura 9, por exemplo, é possível que o período de desenvolvimento ocorra em uma fase mais tardia ou que o período estático seja mais longo nas novilhas *Bos indicus*. Da mesma forma, não se sabe se para induzir a puberdade precoce em novilhas *Bos indicus* seria necessário um período mais curto, ou mais longo, com uma dieta rica em energia. Um achado recente importante (Maquivar et al., não publicado) é que a indução da puberdade precoce não requerer o arraçoamento com uma dieta rica em concentrados, podendo ser induzida usando ingredientes alternativos como grãos secos de destilaria e casca de soja. Assim, a puberdade precoce pode ser conseguida utilizando subprodutos de menor custo para conseguir o aumento necessário no nível de energia da dieta. Ainda é necessário testar em novilhas *Bos indicus* o momento apropriado e a duração do arraçoamento com uma dieta com alto nível de energia para, hipoteticamente, induzir a puberdade precoce. Se as novilhas *Bos indicus* pudessem ser induzidas a alcançar, de forma previsível, a puberdade com 12 a 15 meses de idade e parir com 2 anos de idade, o impacto desta maturação acelerada sobre a eficiência da produção poderia ser investigado.

REFERÊNCIAS

- Abeygunawardena H., Dematawewa C. (2004) Prepuberal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science* 82-83: 373 - 387.
- Arije G. F., Wiltbank J. N. (1971) Age and weight at puberty in Hereford heifers. *Journal of Animal Science* 33: 401 – 406.
- Bagley C.P. (1993) Nutritional management of replacement beef heifers: a review. *Journal of Animal Science* 71: 3155 – 3163.
- Day M.L., Anderson L. H. (1998) Current concepts on the control of puberty in cattle. *Journal of Animal Science* 76 (Suppl. 3): 1 – 15.
- Day M.L., Imakawa K., Garcia-Winder G., Zalesky D.D., Schanbacher B.D., Kittok R.J., Kinder J.E. (1984) Endocrine mechanisms of puberty in heifers: Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. *Biology of Reproduction* 31: 332 – 341.
- Day M. L., Imakawa K., Garcia-Winder M., Kittok R. J., Schanbacher B. D., Kinder J. E. (1986) Influence of prepubertal ovariectomy and estradiol replacement therapy on LH secretion before and after pubertal age in heifers. *Domestic Animal Endocrinology* 3: 17 - 25.
- Fajersson H.V., Barradas H., Roman-Ponce, Cook R.M. (1991) The effects of dietary protein on age and weight at the onset of puberty in Brown Swiss and Zebu heifers in the tropics. *Theriogenology* 35: 845 – 855.
- Ferrell, C. L. (1982) Effects of postweaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. *Journal of Animal Science* 55: 1272 - 1283.

- Gasser C.L., Grum D.E., Mussard M.L., Fluharty F.L., Kinder J.E., Day M.L. (2006a) Induction of precocious puberty in heifers I: enhanced secretion of luteinizing hormone. *Journal of Animal Science* 84:2035- 41.
- Gasser C.L., Burke C.R., Mussard M.L., Behlke E.J., Grum D.E., Kinder J.E., Day M.L. (2006b) Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. *Journal of Animal Science* 84: 2042 – 2049.
- Gasser C.L., Bridges G.A., Mussard M.L., Grum D.E., Kinder J.E., Day M.L. (2006c) Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. *Journal of Animal Science* 84: 2050 – 2056.
- Gasser C.L., Behlke E.J., Grum D.E., Day M.L. (2006d) Effect of timing of feeding high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *Journal of Animal Science* 84: 3118 – 3122.
- Greer R. C., Whitman R. W., Staigmiller R. B., Anderson D. C. (1983) Estimating the impact of management decisions on the occurrence of puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science* 56: 30 – 39.
- Galina C.S., Arthur G. (1989) Review of cattle reproduction in the tropics. Part 1. Puberty and age at first calving. *Animal Breeding Abstracts* 57: 583 - 590.
- Kinder J.E., Day M.L., Kittok R.J. (1987) Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 34: 167 – 186.
- Lamond D.R. (1970) The influence of undernutrition on reproduction in the cow. *Animal Breeding Abstracts* 38: 359 – 372.
- Patterson D.J., Perry R.C., Kiracofe G.H., Bellows R.B., Staigmiller R.B., Corah L.R. (1992) Management considerations in heifer development and puberty. *Journal of Animal Science.* 70: 4018 – 4035.
- Magaña J.G., Segura-Correa J.C. (2006) Body weights at weaning and 18 months of Zebu, Brown Swiss, Charolais and crossbred heifers in south-east Mexico. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 123: 37 - 43.
- Mukassa-Mugerwa E. (1989) A review of reproductive performance of female *Bos indicus* (zebu) cattle. ILCA Monografía No. 6 International Livestock Center of Africa 21:117 - 125.
- Plasse D. (1978) Aspectos del crecimiento de *Bos indicus* en el trópico Americano I. *World Review of Animal Production* 14: 29 - 48.
- Plasse D. (1979) Aspectos del crecimiento de *Bos indicus* en el trópico Americano II. *World Review of Animal Production* 15: 21 - 38.
- Radcliff R.P., VandeHaar M.J., Skidmore A.L., Chapin L.T., Radke B.R., Lloyd J.W., Stanisiewski E.P., Tucker H.A. (1997) Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. *Journal of Dairy Science* 80: 1996 – 2003.
- Radcliff R. P., Bandera M.J., Kobayashi Y., Sharma B.K., Tucker H.A., Lucy M.C. (2004) Effect of dietary energy and somatotropin on components of the somatotropic axis in Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* 87: 1229 – 1235.
- Renaville R., Hammadi M., Portetelle D. (2002) Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 351 – 360.
- Roberts A.J., Grings E.E., MacNeil M.D., Waterman L., Alexander J., Geary T.W. (2007) Reproductive performance of heifers offered ad libitum or restricted access to feed for a 140-d period after weaning. *Journal of Animal Science* 85 (Supl. 2): 169

- Rodriguez R.E., Wise M.E. (1989) Ontogeny of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the bull calf during infantile and pubertal development. *Endocrinology* 124: 248 – 256.
- Schoppee P.D., Armstrong J.D., Harvey M.D., Whitacre M.D., Felix A., Campbell R.M. (1996) Immunization against growth hormone releasing factor or chronic feed restriction initiated at 3.5 months of age reduces ovarian response to pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone at 6 months of age and delays onset of puberty in heifers. *Biology of Reproduction* 55: 87-98.
- Simpson R.B., Armstrong J.D., Harvey R.W., Miller D.C., Heimer E.P., Campbell R.M. (1991) Effect of active immunization against growth hormone releasing factor on growth and onset of puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science* 69: 4914 – 4924.
- Smith G. M., Fitzhugh H. A. Jr., Cundiff L. V., Cartwright T. C., Gregory K. E. (1976) A genetic analysis of maturing patterns in straightbred and crossbred Hereford, Angus and Shorthorn cattle. *Journal of Animal Science* 43: 389 - 395.
- Taylor St. C. S., Fitzhugh H. A. Jr. (1971) Genetic relationships between mature weight and time taken to mature within a breed. *Journal of Animal Science* 33: 726 – 731.
- Thallman R.M., Cundiff L.V., Gregory K.E., Koch R.M. (1999) Germplasm evaluation in beef cattle--Cycle IV: postweaning growth and puberty of heifers. *Journal of Animal Science* 77: 2651 - 2659.
- Webb R., Gosden R.G., Telfer E.E., Moor R.M. (1999) Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Animal Science* 68: 257 – 284
- Wehrman, M. E., Kojima, F. N., Sanchez, T., Mariscal, D. V., Kinder, J. E. (1996) Incidence of precocious puberty in developing beef heifers. *Journal of Animal Science* 74: 2462 - 2467.
- Wiltbank J. N., Gregory K. E., Swiger L. A., Ingalls J. E., Rothlisberger J. A., Koch R. M. (1966) Effects of heterosis on age and weight at puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science* 25: 744 - 751.
- Wiltbank J. N., Kasson C. W., Ingalls J. E. (1969) Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. *Journal of Animal Science* 29: 602 - 605.
- Yelich J.V., Wettemann R.P., Marston T.T., Spicer L.J. (1996) Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-1, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domestic Animal Endocrinology* 13: 325 – 338.
- Zulu V.C., Nakao T., Sawamukai Y. (2002) Insulin-like growth -1 as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *Journal of Veterinary Medicine Science* 64: 657 – 665.