

Resposta reprodutiva de vacas de corte associada a marcadores moleculares relacionados à fertilidade

[*Reproductive performance of beef cattle cows associated with molecular markers related to the fertility*]

C. Gottschall¹, W.G. Glanzner², M.R. Almeida¹, L.C. Canellas³, C.T.D.C. Martins¹, T.A. Weimer¹, H.R. Bittencourt⁴, R.C. Mattos⁵, R.M. Gregory⁵

¹Faculdade de Medicina Veterinária – ULBRA – Canoas, RS

²Aluno de pós-graduação – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS

³Aluno de pós-graduação – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS

⁴PUCRS – Porto Alegre, RS

⁵Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS

RESUMO

O objetivo deste estudo foi buscar associação entre a taxa de prenhez após inseminação e natalidade com marcadores moleculares ligados aos genes do receptor para IGF-1, LHβ, Leptina e receptores do FSH e LH. Utilizaram-se 249 vacas adultas Aberdeen Angus, das quais 199 foram submetidas a protocolos distintos para a IATF, seguida pelo repasse com touros, e 50 vacas formaram o grupo controle representado pelo acasalamento com touros. Foram avaliados o escore de condição corporal (ECC) e o escore de condição ovariana (ECO) ao início da estação reprodutiva. O ECC influenciou a taxa de natalidade, respectivamente de 55,6%, 75,8% e 82,4% ($P < 0,05$) para os animais com ECC menor que 2,5, entre 2,5 a 2,9, e maior ou igual a 3,0, por ocasião da estação reprodutiva. Os marcadores relacionados ao gene do receptor para o IGF-1 (AFZ-1 e HEL5) mostraram associação com a taxa de natalidade. Vacas homozigóticas para o marcador AFZ-1 apresentaram 84,4% de natalidade em comparação às heterozigóticas, com 71,5% ($P < 0,05$). A presença do alelo*161 para o marcador HEL5 foi negativa sobre a natalidade, respectivamente de 33,3% e 76,5% para vacas com e sem esse alelo ($P < 0,05$). Esses resultados demonstram uma importante associação entre os marcadores envolvidos com o receptor para o IGF-1 e desempenho reprodutivo de vacas Angus.

Palavras-chave: bovinos (*Bos taurus*), escore de condição corporal, IGF-1, taxa de natalidade

ABSTRACT

*The association between the reproductive performance, expressed by pregnancy rate at fixed timed artificial insemination and birth rate in the subsequent season in beef cows, and molecular markers linked to genes for IGF-1 receptor, LHβ, leptin, and FSH and LH receptors were evaluated. Data from 249 Aberdeen Angus adult cows were used in this study. One hundred and ninety-nine cows were subjected to four different protocols for FTAI, followed by clean-up bulls and 50 cows formed the control group, mated only with bulls for 90 days during the mating season. Body condition score (BCS) and ovarian condition score (OCE) were evaluated at the beginning of the breeding season. The birth rate in the following year was 75.5%, with no treatments influence. The BCS has influenced the birth rate, respectively 55.6%, 75.8% and 82.4% ($P < 0.05$) for animals with BCS less than 2.5; 2.5 to 2.9; and greater than or equal to 3.0, at the beginning of the breeding season. The markers related to IGF-1 receptor gene (AFZ-1 and HEL5) were associated with the birth rate in beef cows. Cows homozygous for AFZ-1 marker showed 84.4% of birth rate, while heterozygous cows showed 71.5% ($P < 0.05$). The presence of allele *161 to the HEL5 marker was negative on birth rate. Cows with this allele had only 33.3% of birth rate, while cows without this allele had 76.5% of birth rate ($P < 0.05$). These results demonstrate a significant association between the markers involved with the IGF-1 receptor and reproductive performance of Aberdeen Angus beef cows.*

Keywords: beef cows (*Bos taurus*), body condition score, IGF-1, birth rate

Recebido em 10 de setembro de 2012

Aceito em 17 de julho de 2013

E-mail: carlogott@cpovo.net

INTRODUÇÃO

A resposta reprodutiva de vacas de corte é multifatorial, controlada por genes e grandemente afetada por fatores ambientais que interagem entre si (Cammack *et al.*, 2009). Dentre os fatores ambientais, a nutrição exerce um grande efeito sobre a função reprodutiva. Lents *et al.* (2005) associam o consumo de nutrientes e o grau de reservas corporais à função reprodutiva em vacas de corte. Segundo esses autores, a nutrição pode afetar a função ovariana por modular a secreção de hormônios (GnRH, FSH, LH, estrógeno, progesterona) envolvidos no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e também por influenciar a concentração de hormônios metabólicos periféricos, como insulina, leptina, IGF-1, cujas concentrações podem ser afetadas pelo estado nutricional e também são associadas ao desempenho reprodutivo (Wettemann *et al.*, 2003).

Segundo Davis e Denise (1998), marcadores genéticos podem ser usados para buscar associações com características de interesse econômico, identificando os animais de genótipo superior, na tecnologia conhecida como seleção assistida por marcadores (MAS), que é indicada como estratégia auxiliar para aumento do desempenho produtivo em bovinos. O princípio consiste na identificação e seleção para marcadores moleculares associados a genes envolvidos direta ou indiretamente com a expressão de uma característica desejada, geralmente multifatorial e poligênica (Davis e Denise, 1998). Segundo Weimer (2003), a MAS pode ser muito útil para selecionar essas características, permitindo a eliminação de genótipos desfavoráveis. O sistema IGF é um fator de extrema importância e está relacionado ao crescimento de um folículo dominante que culminará na ovulação, exercendo papel-chave na divergência e dominância folicular (Rivera e Fortune, 2003). Por outro lado, a leptina é um hormônio, o qual regula interações entre os eventos nutricionais e reprodutivos (Chehab *et al.*, 2002) e, quando se liga a receptores no hipotálamo, é capaz de interagir no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Williams *et al.*, 2002), sugerindo forte interação com aspectos reprodutivos. Desse modo, alguns estudos vêm tentando buscar e validar associações entre as mais variadas características

reprodutivas e polimorfismos e marcadores moleculares em genes-alvo da reprodução.

Estudos prévios indicaram associações significativas entre marcadores e resposta reprodutiva em bovinos. Oliveira *et al.* (2005) relatam associações entre genótipos favoráveis para os marcadores HEL5 e AFZ-1 associados ao gene do receptor para o IGF-1 (IGF-1R) e desempenho reprodutivo. Weimer *et al.* (2007) investigaram diferentes marcadores, com destaque para o *ILSTS002* e *BMS3004*. Almeida *et al.* (2003) avaliaram 9 marcadores, sendo 4 polimorfismos do gene *LEP* e 5 microssatélites, dentre eles o *IDVGA51*, em fêmeas de raça Brangus. Os autores identificaram uma associação entre o alelo*181 e o intervalo de partos. O *IDVGA51**181 aumentou ($p = 0,002$) o intervalo de partos em 79 dias. Silveira (2007), trabalhando com dois rebanhos, um Aberdeen Angus e outro de gado geral, demonstrou associações entre o microssatélite *IDVGA51* e a função reprodutiva no rebanho de gado geral, mas não no rebanho de Aberdeen Angus, atribuindo a diferença provavelmente à ausência de seleção no primeiro rebanho.

Yang *et al.* (2010) indicaram o gene do receptor do hormônio folículo estimulante (FSHR) como potencial marcador para a avaliação de resposta superovulatória em vacas Holandesas na China. No entanto, Marson (2005) avaliou polimorfismos de genes dos receptores dos hormônios luteinizante (LHR) e foliculoestimulante (FSHR) em novilhas europeia-zebuínas, de diferentes composições raciais, sem associar efeito dos genes investigados sobre a precocidade sexual, sugerindo que novos estudos em outras populações devem ser continuados. Polimorfismos no gene *FSHR* estão relacionados com a resposta à superovulação e consequentemente produção embrionária em bovinos (Cory *et al.*, 2013). Em humanos, estudos recentes têm demonstrado efeitos de polimorfismos nos genes *FSHR* e *LHR*, com características ligadas à reprodução. Marca *et al.* (2013) relataram associações entre um SNP no gene *FSHR* e diferenças nas dosagens de FSH em mulheres, enquanto, em homens, Grigorova *et al.* (2013) encontram associações entre o *FSHR* e volume testicular.

No presente trabalho, buscou-se uma associação entre a taxa de natalidade em vacas de corte Aberdeen Angus e marcadores moleculares e polimorfismos em genes relacionados à reprodução, como IGF1-R, LH β , Leptina, FSHR e LHR.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se dados de 249 vacas Aberdeen Angus, entre 4 e 6 anos de idade, com cria ao pé. Os resultados reprodutivos foram obtidos de 199 vacas submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF), seguida pelo repasse com touros, e de 50 vacas pertencentes a um grupo testemunha que foi apenas entourado.

Seis marcadores moleculares, sendo quatro microssatélites ou STRs (repetições curtas em “tandem”) e 2 polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) foram investigados. Os STRs analisados foram o *AFZ-1* (Jorgensen *et al.*, 1996) e *HEL5* (Bishop *et al.*, 1994), que são associados ao gene do receptor para o IGF-1R, o STR *ILSTS002*, associado ao gene do LH β (Kemp *et al.*, 1992), e o STR *IDVGA51*, associado ao gene do hormônio Leptina (Kappes *et al.*, 1997). Os SNPs FSHR e LHR estão associados aos genes dos receptores do FSH (Houde *et al.*, 1994) e LH (Marson *et al.*, 2005), respectivamente. A associação da eficiência reprodutiva, expressa por prenhez pela IATF, prenhez por touros e taxa de natalidade na estação subsequente, foi testada aos seis marcadores.

Ao início da estação reprodutiva, os animais tiveram o escore de condição corporal classificado, entre 2,0 a 3,5, com média de $2,67 \pm 0,15$ (1 = muito magra a 5 = muito gorda), segundo Lowman *et al.* (1976). Os grupos para a IATF foram representados por 64 animais para o protocolo Crestar 2º uso, 65 animais para o grupo OvSynch, 35 animais para o Primer 1º uso e 35 animais para o grupo Primer 2º uso. O grupo testemunha foi representado por 50 animais. A estação de acasalamento iniciou-se em 20/11 e terminou em 19/02 do ano seguinte para o grupo controle, na proporção de 4% de touros submetidos previamente à avaliação andrológica. Para os animais dos grupos submetidos à IATF,

touros, na proporção de 2,5% ao número total de vacas, foram soltos sete dias após a realização da inseminação.

Através de palpação retal, obteve-se o escore de condição ovariana (ECO) por técnico capacitado, por ocasião da inserção dos dispositivos de progesterona. Nesse momento também foi realizada a avaliação do grupo controle. Usou-se o escore sugerido por Madureira e Pimentel (2005) modificado, sendo atribuído o escore 1 para fêmeas que possuem ovários pequenos, duros e lisos; 2, para fêmeas que possuem ovários com comprimento entre 15-30 mm, ausência de CL e de turgidez no útero, incluindo fêmeas cujos folículos atingem a fase de dominância ($\geq 8,5$ mm); e 3, para fêmeas ciclando, ovários com comprimento acima de 30mm, macios, presença de CL, ou útero com turgidez acentuada, denotando a presença de folículos grandes (> 10 mm).

Por ocasião da inserção do implante auricular, amostras de sangue para a extração do DNA foram obtidas individualmente de todos os animais experimentais, a partir da veia caudal, em tubo vacutainer contendo anticoagulante à base de ácido Etileno Diamino Tetra Acético (EDTA). As amostras de sangue eram processadas no Laboratório de Biotecnologia da Faculdade de Veterinária da ULBRA, para extração do DNA, conforme técnica descrita por Miller *et al.* (1988). Para isso, as amostras eram lavadas em diluição 1:1 (500:500ul) em solução salina fosfatada (PBS), e as hemácias rompidas em sucessivas lavagens em tampão TRIS (10mM), contendo 0,1% de Triton-X. Após o rompimento das hemácias, os leucócitos eram rompidos, para a liberação dos ácidos nucleicos, através de uma solução de TRIS (10mM), NaCl (130mM), EDTA (2mM), Proteinase K (25ug) e 5% de sodium dodecyl sulfato (SDS). O DNA era então precipitado com a adição de álcool etílico anidro e ressuspenso em água ultrapura para posterior análise. Os primers utilizados, bem como suas sequências e produtos de amplificação, são mostrados na Tab. 1. As reações foram realizadas utilizando aproximadamente 50ng de DNA com 40 ciclos de amplificação e volume final de reação de 25uL.

Tabela 1. Marcadores analisados, sequências dos primers, tamanhos esperados dos produtos de amplificação em pares de bases (pb), temperatura de anelamento (TA) e referências

Marcadores	Sequência do Primers	Produtos (pb)	Temperatura de anelamento (°C)	Referências
ILSTS002	F- 5'TCT ATA CAC ATG TGC TGT GC 3' R- 5'CTT AGG GGT GAA GTG ACA CG 3'	123-137	54	Kemp <i>et al.</i> , 1992
IDVGA51	F- 5'ATG GCA ATA TTT TGT TCT TTT TC 3' R- 5'ATT CCT TGA TGG TCT AAT GGT TA 3'	175-183	50	Kappes <i>et al.</i> , 1997
HEL5	F- 5'GCA GGA TCA CTT GTT AGG GA 3' R- 5'AGA CGT TAG TGT ACA TTA AC 3'	147-169	58	Bishop <i>et al.</i> , 1994
AFZ1	F- 5'TTG GAC GAC AAA ACT CAC GG 3' R- 5'GTG GCT GGA CTG GTC TGG TT 3'	151-129	50	Jorgensen <i>et al.</i> , 1996
FSHR	F- 5' CTGCCTCCCTCAAGGTGCCCTC 3' R- 5' AGTTCTTGGCTAAATGTCTTAGGGGG 3'	306 (243/193/63/50)	58	Houde <i>et al.</i> , 1994
LHR	F- 5' CAAACTGACAGTCCCCGCTTT 3' R- 5' GCCATTCCAGTCATGCTCGGAGG 3'	303(303/155/148)	58	Marson <i>et al.</i> , 2005

Os microssatélites estudados foram investigados através da amplificação do DNA por reação em cadeia de polimerase (PCR), utilizando iniciadores (*primers*) específicos descritos anteriormente. Os produtos de amplificação dos microssatélites foram analisados em gel de poliacrilamida vertical, não desnaturante, e visualizados por coloração com nitrato de prata, usando-se um marcador de peso molecular de 25pb (Promega) como escada alélica. Para os marcadores do tipo SNPs, o DNA foi amplificado por PCR, e o produto gerado, fragmentado com enzimas de restrição, *AluI* e *HhaI* para FSHR e LHR, respectivamente, ambas da Promega, conforme o protocolo do fabricante, e analisados em gel vertical de poliacrilamida não desnaturante. As frequências alélicas e genótípicas foram estimadas, respectivamente, por contagem alélica e dos diferentes genótipos, conforme descrito por Weir (1996).

Conforme os resultados da frequência alélica, os genótipos dos STRs foram agrupados em longos e curtos, de acordo com o número de pares de base, conforme Comings (1988). Os genótipos também foram agrupados em homocigotos ou heterocigotos, conforme os seus alelos. Esses agrupamentos foram utilizados para testar o genótipo agrupado ao resultado reprodutivo à inseminação, ao final da estação de acasalamento e à taxa de nascimentos.

Os resultados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância, procedimento GLM e qui-quadrado através do software SPSS 13.0, com nível de significância de 5%. A taxa de prenhez pela IATF, taxa de prenhez por touros (repassé) e a taxa de natalidade foram consideradas variáveis dependentes. Os

diferentes marcadores, com as respectivas classificações curto ou longo, homo ou heterocigoto, e efeitos do tratamento hormonal ou grupo controle foram inseridos no modelo como variáveis independentes. A idade dos animais, ECC, ECO, dias pós-parto ao início da estação reprodutiva foram utilizadas como covariáveis. Interações possíveis entre as variáveis foram testadas. A taxa de prenhez pela IATF e a taxa de prenhez por touros (repassé) não mostraram associações significativas, sendo desconsiderados da discussão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados não demonstraram diferenças entre idade, escore de condição ovariana e dias após o parto de vacas que pariram e que não pariram na estação subsequente (Tab. 2). O número de alelos detectados variou de dois a 10 nos animais experimentais. Os alelos AFZ-1*117, HEL5*165, ILSTS002*135, IDVGA51*175, FSHR*C e LHR*C foram os mais frequentes. Esses achados representam o rebanho em questão, refletindo as características intrínsecas de cada população.

A análise de variância (GLM) para os marcadores ILSTS002, IDVGA51, FSHR e LHR, tendo como variável dependente a taxa de natalidade, não mostrou associação significativa. Também foram procedidas análises para as combinações entre alelos curtos e longos e homocigotos e heterocigotos, sem associação significativa para o ILSTS002 e IDVGA51. Os resultados reprodutivos após os tratamentos hormonais utilizados não mostraram associações significativas com nenhum dos marcadores no presente estudo.

Resposta reprodutiva...

Tabela 2. Número e percentual de natalidade, idade, escore de condição ovariana (ECO) e dias do parto até o início da estação de acasalamento de vacas de corte Aberdeen Angus, conforme o desempenho reprodutivo na estação subsequente

Variáveis	Paridas	Não paridas	Valor de p
Número e (%)	188 (75,5%)	61 (24,5%)	---
Idade (anos)	5,68±0,62	5,66±0,57	0,303
ECO (1 a 3)	2,5±0,50	2,4±0,50	0,148
Dias pós-parto	89,1±19,7	87,1±23,2	0,405

A taxa de natalidade foi de 75,5%, sem influência significativa da idade dos animais, tratamentos hormonais, ECO e dias após o parto. Os marcadores AFZ-1 e HEL5, ambos

associados ao gene do receptor do IGF-1, demonstraram significância para a taxa de natalidade (Tab. 3).

Tabela 3. Associação do marcador AFZ-1 conforme a classificação alélica em homozigoto ou heterozigoto e do marcador HEL5 conforme ausência ou presença do alelo*161, com o percentual de natalidade em vacas de corte Aberdeen Angus

Marcadores	AFZ-1		HEL5		Total
	Homozigotos	Heterozigotos	*161 Ausente	*161 Presente	
Vacas paridas (natalidade)	65/77 (84,4%) ^a	123/172 (71,5%) ^b	182/243 (76,5%) ^a	2/6 (33,3%) ^b	188/249 (75,5%)
Não parida	12/77 (15,6%) ^a	49/172 (28,5%) ^b	57/243 (23,5%) ^a	4/6 (66,7%) ^b	61/249 (24,5%)
Total	77/249 (30,9%)	172/249 (69,1%)	243/249 (97,6%)	6/249 (2,4%)	

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, diferem entre si (P<0,05).

Os marcadores AFZ-1 e HEL5 estão mapeados no cromossomo 21 e têm descrição como o gene alvo o receptor para o IGF-1 (IGF-1R). Os resultados indicaram associações dos marcadores AFZ-1 e HEL5 e desempenho reprodutivo, expresso pela taxa de natalidade. Vacas homozigóticas para o marcador AFZ-1 apresentaram 84,4% de natalidade em comparação às heterozigóticas com 71,5% (P<0,05). A presença do alelo*161 para o marcador HEL5 foi negativa sobre a natalidade, sendo esse alelo desvantajoso para essa característica. Vacas com a presença desse alelo tiveram apenas 33,3% de natalidade, enquanto vacas sem a presença desse alelo tiveram 76,5% de natalidade (P<0,05).

Evidências indicam que o IGF-1 está associado à capacidade de produção de estrógeno, proliferação celular, foliculogênese e ovulação. Segundo Diskin *et al.* (2003), a restrição alimentar prolongada de bovinos ocasiona o decréscimo na concentração circulante de insulina e IGF-1, limitando a disponibilidade de IGF nas células foliculares e, conseqüentemente,

sua habilidade sinérgica com as gonadotrofinas hipofisárias na estimulação da proliferação celular e da esteroidogênese intrafolicular. No rebanho em questão, provavelmente animais homozigotos tiveram maior estímulo aos receptores para o IGF-1 e à resposta desse hormônio que afeta a esteroidogênese, estando associada com a taxa ovulatória (Ciccioli *et al.*, 2003) e, conseqüentemente, com a concepção e natalidade.

A presença do alelo*161 para o marcador HEL5, possivelmente, influenciou a expressão do gene IGF-1R, o que pode ter alterado a funcionalidade do hormônio IGF-1. Embora o número de animais com a presença desse alelo seja pequena (seis animais), os resultados são consistentes (33,3% x 76,5% de natalidade). Uma possível associação com a pressão de seleção por fertilidade não deve ser descartada. O rebanho em questão fora adquirido havia 3,5 anos quando este trabalho foi realizado. Anteriormente o manejo reprodutivo da propriedade era nulo, sem estação de acasalamento definida e sem diagnóstico de gestação. Após a aquisição dos

animais e arrendamento da propriedade, instituíram-se práticas de manejo, com estação de acasalamento e pressão por fertilidade, especialmente nas novilhas. Coincidentemente, nos seis animais genotipados com o alelo*161, quatro tinham seis anos, dois tinham cinco anos e nenhum de quatro anos. Pode-se inferir que, à medida que a pressão de seleção por fertilidade foi se tornando mais intensa, a presença desse alelo indesejável foi diminuindo.

Oliveira *et al.* (2005), em rebanho de vacas da raça Ibagé, encontraram efeito significativo entre os genótipos favoráveis para os microssatélites AFZ-1 e HEL5 e menor intervalo de partos (IP) em relação àquelas com genótipos desfavoráveis, respectivamente de 435 e 585 dias ($P=0,003$). Os animais homocigotos, para alelos curtos no AFZ-1 e longos no loco HEL5, apresentam maior IP que os demais animais.

O ECC como covariável mostrou-se significativo em todas as análises para a taxa de natalidade ($p<0,05$). Os dados de ECC, depois de estratificados em três faixas 2,0 a 2,4, 2,5 a 2,9, 3,0 a 3,5, resultaram, respectivamente, em uma taxa de natalidade de 55,6%, 75,8% e 82,4%. Wettemann *et al.* (2003) afirmam que as reservas corporais ao parto exercem uma importante influência sobre o intervalo parto primeiro estro e ovulação em vacas de corte lactantes. Segundo os autores, a diminuição dos pulsos de GnRH causam redução na secreção pulsátil de LH, aumentando o período anovulatório em vacas de corte, pois a inadequada secreção de LH não permite desenvolvimento e secreção suficiente de estrógeno pelo folículo dominante para induzir o pico ovulatório de LH e o estro. Muito embora a análise por tratamento não tenha demonstrado diferença significativa entre o ECC de vacas prenhes e vazias que foram submetidas aos tratamentos hormonais para a IATF, apenas em vacas do grupo controle (touro) a diferença foi significativa. Esse resultado, possivelmente, é consequência da capacidade que os tratamentos à base de hormônios tiveram em induzir a ciclicidade em alguns animais com menor condição corporal. Entretanto, para a taxa de natalidade, independentemente de tratamento, o ECC mostrou-se como um importante preditor de eficiência reprodutiva.

CONCLUSÃO

O escore de condição corporal ao início da estação reprodutiva pode ser usado como preditor de resposta reprodutiva subsequente em rebanhos de vacas de corte, com desempenho superior para vacas com ECC acima de 3,0. Os marcadores moleculares AFZ-1 e HEL5 mostraram associações favoráveis com a taxa de natalidade na população estudada. Esses resultados são promissores e novos estudos devem ser conduzidos, pois esses achados podem ser empregados para a seleção de animais/populações com maior e/ou menor frequência de alelos que expressem as características desejadas.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) e aprovado, com número de protocolo 00001/2011.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S.E.M.; ALMEIDA, E.A.; MORAES, J.C.F. *et al.* Molecular markers in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle. *J. Anim. Breed. Genet.*, v.123, p.106-113, 2003.
- BISHOP, M.D.; KAPPES, S.M.; KEELE, J.W. *et al.* A genetic-linkage map for cattle. *Genetics.*, v.136, p.619-639, 1994.
- CAMMACK, K.M.; THOMAS, M.G.; ENNS, R.M. REVIEW: Reproductive Traits and Their Heritabilities in Beef Cattle. *The Professional Anim. Sci.*, v.25, p.517-528, 2009.
- CHEHAB, F.F.; QIU, J.; MOUNZIH, K. *et al.* Leptin and reproduction. *Nutr. Rev.*, v.60, p.39-46, 2002.
- CICCIOLI, N.H.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J. *et al.* Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.81, p.3107-3120, 2003.
- COMINGS, D.E. Polygenic inheritance of micro/minisatellites. *Mol. Psychiatry.*, v.3, p.21-31, 1988.
- CORY, A.T.; PRICE, C.A.; LEFEBVRE, R.; PALIN, M. Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine follicle-stimulating hormone receptor and effects of genotypes on superovulatory response traits. *Anim. Genet.*, v.44, p.197-201, 2013.

Resposta reprodutiva...

- DAVIS, G.P.; DENISE, S.K. The impact of molecular markers on selection. *J. Anim. Sci.*, v.76, p.2331-2339, 1998.
- DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; ROCHE, J.F. *et al.* Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, p.345-370, 2003.
- GRIGOROVA, M.; PUNAB, M.; POOLAMETS, O. *et al.* Study in 1790 Baltic men: FSHR Asn680Ser polymorphism affects total testes volume. *Androl.*, v.1, p.293-300, 2013.
- HOUDE, A.; LAMBERT, A.; SAUMANDE, J. *et al.* Structure of the bovine follicle-stimulating hormone receptor complementary DNA and expression in bovine tissues. *Mol. Reprod. Dev.*, v.39, p.127-135, 1994.
- JORGENSEN, C.B.; KONFORTOV, B.A.; MILLER, J.R. A polymorphic microsatellite locus (AFZ1) derived from a bovine brain cortex cDNA library. *Anim. Genetics.*, v.27, p.220, 1996.
- KAPPES, S.M.; KEELE, J.W.; STONE, R.T. *et al.* A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res.*, v.7, p.235-249, 1997.
- KEMP, S.J.; BREZINSKY, L.; TEALE, A.J. ILSTS002: a polymorphic bovine microsatellite. *Anim. Genetics.*, v.23, p.184, 1992.
- LENTS, C.A.; WETTEMANN, R.P.; WHITE, F.J. *et al.* Influence of nutrient intake and body fat on concentrations of insulin-like growth factor-I, insulin, thyroxine and leptin in plasma of gestating beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.83, p.586-596, 2005.
- LOWMAN, B.G.; SCOTT, N.A.; SOMERVILLE, S.H. Condition scoring beef cows. *The East of Scot. College of Agric. Bul.*, v.6, p.8, 1976.
- MADUREIRA, E.H.; PIMENTEL, J.R.V. IATF como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16., 2005, Goiânia, GO. *Anais...* Goiânia, 2005. p.1-8.
- MARCA, A.L.; PAPALEO, E.; ALVIGGI, C. *et al.* The combination of genetic variants of the FSHB and FSHR genes affects serum FSH in women of reproductive age. *Hum. Reprod.*, v.28, p.1369-1374, 2013.
- MARSON, E.P. *Caracterização da frequência de heterozigose em genes ligados à precocidade sexual em novilhas de corte compostas.* 2005. 87f. Tese (Doutorado em qualidade e produtividade animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- MARSON, E.P.; FERRAZ, J.B.; MEIRELLES, F.V. *et al.* Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Genet. Mol. Res.*, v.4, p.496-505, 2005.
- MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, v.16, p.1215, 1988.
- OLIVEIRA, J.F.C.; NEVES, J.P.; ALMEIDA, E.A. *et al.* Association between reproductive traits and four microsatellites in Brangus-ibagé cattle. *Genet. Mol. Biol.*, v.28, p.54-59, 2005.
- RIVERA, G.M.; FORTUNE, J.E. Proteolysis of Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins -4 and -5 in Bovine Follicular Fluid: Implications for Ovarian Follicular Selection and Dominance. *Endocrinology*, v.144, p.2977-2987, 2003.
- SILVEIRA, J.C. *Marcadores moleculares e associação com características reprodutivas em dois rebanhos bovinos do Rio Grande do Sul.* 2007. 78f. Dissertação (Mestrado em genética e toxicologia aplicada) – Universidade Luterana do Brasil, Canoas.
- WEIMER, T.A. Diagnóstico genético-molecular aplicado à produção animal. In: MARKES, E.K. *Diagnóstico Genético-Molecular.* Brasil : ULBRA, 2003. p.203-218.
- WEIMER, T.A.; STEIGLEDER, C.S.; MACHADO, M.S. *et al.* Identification of molecular markers on bovine chromosome 18 associated to calving interval in a Brangus-Ibagé cattle herd. *Cienc. Rural.*, v.37, p.1502-1505, 2007.
- WEIR B.S. *Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data.* EUA: Sinauer Associates, 1996. 377p.
- WETTEMANN, R.P.; LENTS, C.A.; CICCIONI, N.H. *et al.* Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.81, p.48-59, 2003.
- WILLIAMS, G.L.; AMSTALDEN, M.; GARCIA, M. R. *et al.* Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.23, p.339-349, 2002.
- YANG, W.C.; LI, S.J.; TANG, K.Q. *et al.* Polymorphisms in the 5' upstream region of the FSH receptor gene, and their association with superovulation traits in Chinese Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.119, p.172-177, 2010.