



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RICARDO GUELLA DRÖHER

**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS DE
VACAS HOLANDESAS DE ALTA PRODUÇÃO COM
DIFERENTES CONTAGENS DE FOLÍCULOS ANTRAIS**

Londrina
2019

RICARDO GUELLA DRÖHER

**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS DE
VACAS HOLANDESAS DE ALTA PRODUÇÃO COM
DIFERENTES CONTAGENS DE FOLÍCULOS ANTRAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. (Área de Concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda.

Londrina
2019

RICARDO GUELLA DRÖHER

**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS DE VACAS
HOLANDESAS DE ALTA PRODUÇÃO COM
DIFERENTES CONTAGENS DE FOLÍCULOS ANTRAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. (Área de Concentração: Sanidade Animal).

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fabio Morotti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Marcelo Fábio Gouveia Nogueira
Universidade Estadual Paulista – UNESP

Londrina, 08 de fevereiro de 2019.

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Dröher, Ricardo Guella.

Características produtivas e reprodutivas de vacas Holandesas de alta produção com diferentes contagens de folículos antrais / Ricardo Guella Dröher. - Londrina, 2019. 70 f. : il.

Orientador: Marcelo Marcondes Seneda.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2019.

Inclui bibliografia.

1. Ultrassonografia - Tese. 2. Contagem folicular antral - Tese. 3. Características produtivas e reprodutivas - Tese. 4. Vacas Holandesas - Tese. I. Seneda, Marcelo Marcondes. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . III. Título.

O presente trabalho foi realizado junto ao Laboratório de Reprodução Animal (REPROA), Departamento de Clínicas Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (Área de Concentração: Sanidade Animal), sob orientação do Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda.

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto a:

1. **ZOETIS BRASIL – Saúde Animal / ZOETIS BR**
2. **CRV LAGOA**

DEDICATÓRIA

À DEUS.

À minha família.

À minha esposa e ao meu filho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me permitido chegar até esse momento, por ter me conduzido pelo melhor caminho, pela força para transpor os obstáculos e os desafios do dia-a-dia tanto nos estudos como no ambiente de trabalho e não ter me deixado desistir. Por guiar-me pelos muitos quilômetros percorridos viajando para Londrina. Pela oportunidade de amadurecimento como profissional, homem e agora pai.

Agradeço a minha família, ao meu irmão, sobrinha, e a minha grande mãe, os quais participaram ativamente durante o trabalho de campo. A todo apoio e diferença que minha mãe Romilda faz na minha e na vida dos meus irmãos Rafael e Marcelle, **MUITO OBRIGADO MÃE!!!**

A minha esposa Natalia, a qual foi fundamental na minha trajetória até aqui, sempre me apoiando, aconselhando, dando força a continuar superando os contratempos e a não desistir. Pela compreensão da minha ausência em muitos momentos dedicados ao estudo e trabalho. Pelo maior presente da minha vida, nosso filho, Caio Yuji. Pelo exemplo de dedicação profissional, esposa e como mãe que você nos demonstra diariamente, **TE AMAMOS!!!**

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Seneda pela oportunidade tanto sonhada, por acreditar em mim, pelo voto de confiança mesmo sabendo das dificuldades que eu encontraria para conciliar o mestrado e o meu trabalho profissional. Pela compreensão nos momentos de correria e atrapalhos, pelo exemplo de profissionalismo, sempre equilibrado e conciso.

Aos colegas do Laboratório REPROA, em especial aos que participaram ativamente na execução do trabalho e durante as aulas do mestrado. Aos amigos que fiz durante a Pós. Não poderia de deixar de agradecer ao Prof. Dr. Fabio Morotti, o qual foi fundamental durante todo o mestrado e na execução do experimento tornando esse trabalho possível. A Dr^a. Roberta Garbelini Gomes Zanin pelas importantes orientações e contribuições durante a banca de qualificação. Ao Prof. Dr. Marcelo Fábio Gouveia Nogueira por aceitar participar desse momento tão importante da minha carreira profissional, dedicando tempo e conhecimento para contribuir com esse trabalho.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da UEL, em especial à Prof^a. Dra. Ana Paula Bracarense, pela oportunidade, e a todos os professores do Programa que contribuem ativamente da nossa formação profissional.

Agradeço a Fazendo Horizonte, equipe e família Jan e Fernando de Boer, por abrir a porteira da propriedade e seder à estrutura e os animais, possibilitando este trabalho. À CRV Lagoa, em especial ao Richard Rabbers pela disponibilização do sêmen utilizado no experimento. À Zoetis pela doação da prostaglandina, e a todos que contribuíram de alguma forma tornando possível essa pesquisa, meu **MUITO OBRIGADO!!!**

“Uma pessoa que nunca cometeu erros, nunca tentou algo novo.”

ALBERT EINSTEIN

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados.”

MAHATMA GANDHI

“Diante de um obstáculo, você muda de direção, não de objetivo.”

ZIG ZIGLAR

RESUMO

DRÖHER, Ricardo Guella. **Características produtivas e reprodutivas de vacas holandesas de alta produção com diferentes contagens de folículos antrais**. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2019.

RESUMO

Dois estudos foram realizados com o objetivo de: I) Analisar as diferenças na taxa de concepção, nas características ovarianas e aspectos produtivos de vacas submetidas à inseminação artificial (IA; sêmen de um único touro) com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais (CFA) e II) Comparar a CFA em três momentos distintos (IA, 30 e 60 dias de gestação) para investigar se a CFA alterava-se ao longo desse período de monitoramento. Foi utilizado um ultrassom, para avaliar a CFA e as variáveis do aparelho reprodutivo de vacas Holandesas lactantes confinadas. No estudo I foram selecionados 100 animais, com escore de condição corporal (ECC) de 2,5 a 4,5 (escala 1 a 5) e idade de 24 a 108 meses. No dia do estro, avaliou-se: a CFA ≥ 2 mm de diâmetro, o ECC, peso corporal (PC), os diâmetros do folículo dominante (FD), dos cornos uterinos, dos ovários e do corpo lúteo dos animais. Aos 30 e 60 dias após a IA, o diagnóstico de gestação foi realizado. Considerando a CFA das vacas incluídas no estudo I os tercís T1, T2 e T3 foram estabelecidos e as fêmeas divididas em G-baixa (≤ 19 folículos), G-intermediário (≥ 20 e ≤ 29 folículos) e G-alta (≥ 30 folículos). As análises foram realizadas pelo modelo linear generalizado, inserindo a CFA como efeito fixo e as demais fontes de variação como covariáveis. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A taxa de concepção foi analisada por Regressão Logística Binária ($p < 0,05$). Comparando alta CFA vs intermediária, o G-alta apresentou ($p < 0,05$) menor diâmetro do FD ($16,0 \pm 2,6$ vs $17,9 \pm 2,6$), maior ECC ($3,6 \pm 0,5$ vs. $3,5 \pm 0,6$) e superiores taxas de concepção aos 30 (55,2% vs 29,3%) e 60 dias de gestação (48,3% vs 24,4%), respectivamente. Houve diferença ($p = 0,01$) no PC entre o G-alta ($645,1 \pm 62,9$) e o G-baixa ($589,1 \pm 89,7$). No Estudo II, foram utilizadas 54 vacas gestantes, avaliadas quanto a CFA, o ECC e o PC dos animais em três momentos (IA, 30 e 60 dias gestação). Na análise estatística, as variáveis (CFA, ECC e PC) foram analisadas por medidas repetidas empregando o modelo linear generalizado, tendo o efeito do tempo como efeito fixo e as demais fontes como covariáveis. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Foi constatado que a CFA aumenta ($p = 0,0001$) do momento da IA ($55,1 \pm 3,1$; vacas não gestantes) em relação aos 30 ($82,6 \pm 4,2$) e 60 dias ($115,2 \pm 5,1$) de gestação. Houve aumento ($p = 0,01$) no ECC entre o dia da IA ($3,4 \pm 0,1$) e aos 60 dias de gestação ($3,7 \pm 0,1$). Portanto, a CFA pode estar relacionada com as características produtivas, reprodutivas, bem como a taxa de concepção de vacas de leite de alta produção, porém o melhor desempenho reprodutivo de vacas de alta CFA ainda precisa ser estabelecido. A CFA é maior na vaca gestante em relação ao momento da inseminação artificial.

Palavras chave: Ultrassonografi. Prenhez. Folículos antrais. Peso. *Bos taurus taurus*.

ABSTRACT

DRÖHER, Ricardo Guella. **Productive and reproductive characteristics of high production Holstein cows with different antral follicle counts.** 2019. 70 p. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) – University State of Londrina. Londrina. 2019.

ABSTRACT

Two studies were carried out with the objective of: I) To analyze the differences in conception rate, ovarian characteristics and productive aspects of cows submitted to artificial insemination (AI, single bull semen) with low, intermediate and high antral follicle counts (AFC), and II) to compare AFC at three different times (AI, 30 and 60 days gestation) to investigate whether AFC was altered during this monitoring period. Ultrasound was used to evaluate the AFC and the variables of the reproductive tract of confined lactating Holstein cows. In the study I were selected 100 animals, with body condition score (BCS) of 2.5 to 4.5 (scale 1 to 5) and age of 24 to 108 months. On the day of estrus, we evaluated: AFC ≥ 2 mm in diameter, BCS, body weight (BW), diameters of the dominant follicle (DF), uterine horns, ovaries and corpus luteum of animals. At 30 and 60 days after AI, the diagnosis of gestation was performed. Considering the AFC of the cows included in study I the T1, T2 and T3 tertiles were established and the females divided into G-low (≤ 19 follicles), G-intermediate (≥ 20 and ≤ 29 follicles) and G-high (≥ 30 follicles). The analyzes were performed by the generalized linear model, inserting the AFC as fixed effect and the other sources of variation as covariables. The averages were compared by the Tukey's test ($p < 0.05$). The conception rate was analyzed by Binary Logistic Regression ($p < 0.05$). Comparing high AFC vs intermediate, G-high presented ($p < 0.05$) lower DF diameter (16.0 ± 2.6 vs 17.9 ± 2.6), higher BCS (3.6 ± 0.5 vs 3.5 ± 0.6) and higher conception rates at 30 (55.2% vs 29.3%) and 60 days of gestation (48.3% vs 24.4%), respectively. There was a difference ($p = 0.01$) in BW between G-high (645.1 ± 62.9) and G-low (589.1 ± 89.7). In Study II, 54 pregnant cows were evaluated, evaluated for AFC, BCS and BW of the animals at three moments (AI, 30 and 60 days gestation). In the statistical analysis, the variables (AFC, BCS and BW) were analyzed by repeated measurements using the generalized linear model, with the effect of time as a fixed effect and the other sources as covariables. The averages were compared by the Tukey's test ($p < 0.05$). It was found that the AFC increased ($p = 0.0001$) from AI (55.1 ± 3.1 ; non-pregnant cows) in relation to 30 (82.6 ± 4.2) and 60 days (115.2 ± 5.1) of gestation. There was an increase ($p = 0.01$) in BCS between AI day (3.4 ± 0.1) and 60 days of gestation (3.7 ± 0.1). Therefore, AFC may be related to the productive and reproductive characteristics as well as the conception rate of high production cows, but the best reproductive performance of high AFC cows has yet to be established. The AFC is higher in the pregnant cow compared to the time of artificial insemination.

Keywords: Ultrasonography. Pregnancy. Oocytes. Embryo. *Bos taurus taurus*.

LISTA DE FIGURAS**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Características anatômicas do folículo secundário e terciário	16
Figura 2 - Sequência esquemática do desenvolvimento folicular ovariano.	17
Figura 3 - Esquema representativo do crescimento folicular em vacas	19
Artigo - Características produtivas e reprodutivas de vacas holandesas de alta produção com diferentes contagens de folículos antrais	
Figura 1 - Delineamento experimental empregado na contagem de folículos antrais em vacas de leite de alta produção.....	53
Figura 2 - Taxa de concepção de vacas Holandesas submetidas a IA com 30 e 60 dias de gestação, distribuídas em grupos de baixa, intermediária e alta CFA	55

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Classificação da população de folículos em alta, intermediária e baixa contagem de folículos antrais e sua correlação com a taxa de concepção em vacas taurinas e zebuínas submetidas a uma única inseminação artificial relatadas por diversos grupos de pesquisadores 27
- Tabela 2** - Taxa de prenhez de zebuínos submetidos à IATF de acordo com a contagem de folículos antrais. 28
- Artigo** - **Características produtivas e reprodutivas de vacas holandesas de alta produção com diferentes contagens de folículos antrais**
- Tabela 1** - Características produtivas e reprodutivas de vacas Holandesas com baixa (primeiro tercil $T1 \leq 19$ folículos), intermediária (intervalo entre $T1$ e $T3 \geq 20$ e ≤ 29 folículos) e alta contagem de folículos antrais (terceiro tercil $T3 \geq 30$ folículos). 56
- Tabela 2** - Contagem de folículos antrais, peso e escore de condição corporal de vacas Holandesas no momento da inseminação artificial, com 30 e 60 dias de prenhez 57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AMH	Hormônio Anti-Mülleriano CCOs- <i>Complexo Cumulus Oócito</i>
CFA	Contagem de folículos antrais
°C	Grau Celsius
D	Dia do protocolo
ECC	Escore de condição Corporal E2 - Estradiol
FD	Folículo dominante FIV – Fecundação <i>in vitro</i>
FSH	Hormônio folículo estimulante
G-Alta	Grupo de alta contagem de folículos antrais
G-Baixa	Grupo de baixa contagem de folículos antrais
G-Intermediária	Grupo intermediária contagem de folículos antrais g - Grama
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo MG – Miligrama
OPU	Aspiração Folicular transvaginal guiada por ultrassonografia (<i>ovum pick-up</i>)
PFA	População folicular antral
PIV	Produzidos <i>in vitro</i>
PIVE	Produção <i>in vitro</i> de embriões P4 – Progesterona

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.	13
2.1	O OVÁRIO	13
2.1.1	Morfologia Ovariana	13
2.1.2	Oogênese	13
2.1.3	Foliculogênese	14
2.2	FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL	17
2.2.1	O Controle Endócrino no Ciclo Estral	17
2.2.2	Dinâmica Folicular Ovariana no Ciclo Estral	19
2.2.3	Dinâmica do Corpo Lúteo no Ciclo Estral	21
2.3	DIFERENÇAS ENTRE ANIMAIS TAURINOS E ZEBUÍNOS.	22
2.4	POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA.	23
2.4.1	Contagem da População de Folículos Antrais	24
2.4.2	Influência da População Folicular nas Biotecnologias da Reprodução	27
2.5	SCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL E ESTIMATIVO DO PESO.	30
	REFERÊNCIAS	32
3	OBJETIVOS	45
3.1	OBJETIVO GERAL	45
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
4	ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO.	46
1.	INTRODUÇÃO	48
2.	MATERIAL E MÉTODOS.	50
3.	RESULTADOS	54
4.	DISCUSSÃO	57
	REFERÊNCIAS	63
6	CONCLUSÕES	69

1 INTRODUÇÃO

O setor agropecuário brasileiro se encontra em constante ascensão. O Brasil atualmente está no segundo lugar do *ranking* mundial com 215 milhões de cabeças de bovinos, o que equivale a 22% do rebanho do mundo e ficando atrás apenas da Índia. Na produção de carne, o País é o segundo colocado sendo responsável por 15 % da produção global. Do total do rebanho de bovinos, 17 milhões de vacas foram ordenhadas, com uma produção média de 33,5 bilhões de litros por ano, o que reforça a importância econômica do setor leiteiro para o país (IBGE, 2017).

Na pecuária de leite, vaca de alta produção vem se tornando cada vez mais comum, sendo resultado de investimentos em melhorias no manejo, na nutrição, na sanidade e principalmente no uso em larga escala de touros com alto valor genético para a produção. Em contrapartida, nas últimas décadas o desempenho reprodutivo vem diminuindo significativamente, especialmente nas leiterias altamente especializadas (Cutullic et al., 2010), dificilmente ultrapassando taxas de concepção de 35% em muitos países. Altas produções de leite têm sido associadas não somente com baixas taxas de concepção, mas também a menor expressão e duração do estro, conseqüentemente, ao aumento dos dias em aberto (Ferguson; Skidmore, 2013). Todo esse contexto eleva a taxa de descarte involuntário de animais, diminuindo assim a permanência dos animais nos rebanhos e aumentando o custo de produção.

O desempenho reprodutivo de um rebanho leiteiro pode ser considerado um dos componentes mais importantes no êxito econômico da propriedade rural que possui como fonte de renda a produção de leite (De Vries, 2006). O ganho financeiro resultante do incremento nos índices reprodutivos pode ser três vezes maior que o esperado pelo melhoramento genético dos animais e até cinco vezes superior ao esperado pelo aumento da qualidade do leite (Gaines, 1994).

Este baixo desempenho relatado em rebanhos leiteiros é algo complexo e pode estar associado as mudanças no genótipo e metabólicas que ocorreram durante o melhoramento genético dos animais priorizando maiores produções de leite (Gutierrez et al., 2006). Neste cenário, o uso de biotecnologias da reprodução pode auxiliar no incremento de melhores resultados no âmbito reprodutivo dos animais de produção.

O tamanho da população folicular ovariana, avaliada pela contagem de folículos antrais (CFA), pode contribuir no uso de tecnologias da reprodução em

1 bovinos (Burns et al., 2005; Ireland et al., 2009; Mossa et al., 2012) e auxiliar na
2 seleção de animais com um maior potencial reprodutivo. Vários estudos sugerem que há
3 uma forte correlação positiva da alta CFA com vários parâmetros de fertilidade, assim
4 como uma maior qualidade dos oócitos e embriões (Sinch et al., 2004; Ireland et al.,
5 2008), melhor resposta a tratamentos com gonadotrofinas na superovulação (Taneja et
6 al., 2000; Ireland et al., 2011), com o maior número de oócitos recuperados e embriões
7 transferidos (Burns et al., 2005; Ireland et al., 2007; 2008; Mossa et al., 2010) e ainda,
8 com concentrações plasmáticas superiores de hormônio anti-Mülleriano (AMH; Batista
9 et al., 2014). Por outro lado, tem se sugerido que a CFA é uma característica de
10 herdabilidade baixa a moderada em vacas leiteiras (Walsh et al., 2014).

11 Do mesmo modo, a baixa CFA em fêmeas taurinas vem sendo relacionada ao
12 baixo desempenho reprodutivo (Ireland et al., 2007; Walsh et al., 2014), maior intervalo
13 parto concepção (Mossa et al., 2012), a baixas concentrações circulantes de
14 progesterona (P4; Evans et al., 2012; Martinez et al., 2016), menores espessuras
15 endometriais (Jimenez-Krassel et al., 2009), conseqüentemente, maiores perdas
16 embrionárias (Diskin; Morris, 2008). Contudo, estudos recentes vêm observando
17 resultados contraditórios, os quais encontraram um melhor desempenho de animais
18 submetidos à inseminação artificial nos grupos de baixa CFA tanto em taurinos
19 (Jimenez-Krassel et al., 2017) quanto em animais zebuínos (Morotti et al., 2018). Frente
20 a um assunto bastante controverso, novas investigações são necessárias para uma
21 melhor compreensão do efeito da CFA sobre o desempenho reprodutivo e também a
22 verificação de possíveis influências de manejo, nutrição, rebanho, ambiente e protocolos
23 hormonais.

24 O objetivo do presente trabalho foi mensurar as estruturas ovarianas e a
25 população de folículos antrais utilizando a ultrassonografia transvaginal durante o estro
26 dos animais. Adicionalmente, objetivou-se relacionar a CFA com características
27 produtivas e reprodutivas dos animais.

28

29

30

31

32

33

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O OVÁRIO

2.1.1 Morfologia Ovariana

O ovário é o responsável pelo desenvolvimento, maturação e liberação de gametas femininos para fecundação, bem como pela síntese e secreção de hormônios essenciais para o desenvolvimento folicular, para a ciclicidade estral e manutenção morfofisiológica do trato reprodutivo (Murdoch, 1996; Araújo et al., 2014). Na espécie bovina, o órgão possui a forma de amêndoa, medindo em seu maior diâmetro entre 3,0 e 4,5 cm e uma espessura em torno de 1,5 a 2,0 cm, que na fêmea adulta pesa entre 10 a 20 g dependendo do estágio do ciclo estral (Hafez; Hafez, 2004).

Sua estrutura é circundada por um epitélio superficial ou germinativo sobre a membrana basal e, sob a mesma, se encontra a túnica albugínea e o estroma ovariano (Murdoch, 1996). O ovário é formado por duas regiões que originam vários tipos celulares: regiões cortical e medular. Na região externa (cortical) encontram-se células da teca, da granulosa, do estroma, do epitélio da superfície ovariana e oócitos. Posteriormente, estas células sofrem diferenciação, por exemplo, as células da granulosa se diferenciam em células do *cúmulus*, murais e luteais, enquanto as células da teca, em camada externa e interna (Erickson; Shimasaki, 2003). Essa região (externa) é composta por fibras de colágeno tipo I e III, terminações nervosas, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e fibroblastos (Hafez; Hafez, 2004). Segundo Murdoch (1996), dependendo da fase, se encontra folículos ovarianos em desenvolvimento ou em atresia, corpos lúteos, corpos albicans e corpos hemorrágicos.

A região mais interna do ovário (medular) é constituída por fibras de colágeno tipos I e III, fibroblastos, fibronectina, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, sendo responsável pela nutrição e sustentação do ovário (Hafez; Hafez, 2004).

2.1.2 Oogênese

Nas espécies domésticas, a oogênese se inicia na fase fetal e se encerra após a fecundação, podendo ser definida como um conjunto de processos que envolvem a formação e diferenciação das células germinativas primordiais até a formação do oócito

1 haploide fecundado (Van den Hurk; Zhao, 2005). Durante o desenvolvimento fetal, as
2 células germinativas migram (por volta de 30 dias de gestação) do saco vitelínico para
3 as cristas gonadais, sofrem sucessivas mitoses originando as oogônias (Gordon, 1994) e
4 entram na primeira divisão meiótica, tornando-se oócitos primários (Van den Hurk;
5 Zhao, 2005).

6 O núcleo do oócito passa por diversos estágios da prófase I (leptóteno,
7 zigóteno, paquíteno e diplóteno), após ocorre a primeira interrupção da meiose,
8 permanecendo no estágio de vesícula germinativa até a fase de puberdade do animal
9 (antes da ovulação; Figueiredo et al., 2008). O processo da meiose é retomado em
10 resposta à estimulação pelo hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio
11 luteinizante (LH), induzindo o rompimento da vesícula germinativa e passa em seguida
12 pelas fases de metáfase I, anáfase I e telófase I, ocorrendo a liberação do 1º corpúsculo
13 polar e formação do oócito secundário (Betteridge et al., 1989).

14 O oócito permanece no estágio de metáfase II até ser ovulado e transportado
15 para o oviduto, onde poderá ser fecundado por um espermatozoide. Caso aconteça a
16 fecundação, o oócito retoma a meiose (2ª divisão meiótica), promovendo a extrusão do
17 segundo corpúsculo polar e finalizando assim, a fase da oogênese (Betteridge et al.,
18 1989; Gordon, 1994).

19

20 2.1.3 Foliculogênese

21

22 A foliculogênese é um processo fisiológico que começa na fase fetal, leva
23 cerca de 6 meses para se completar e é controlado por fatores autócrinos, parácrinos e
24 endócrinos (Magalhães et al., 2009, Araújo et al., 2014). Seu processo rege o
25 desenvolvimento folicular do início da formação do folículo primordial até a maturação
26 folicular ovariana, período quando se forma o folículo maduro (também conhecido
27 como pré-ovulatório; Saumande, 1981, Araújo et al., 2014). De forma simultânea, o
28 oócito e as células da camada granulosa crescem e se diferenciam (Adams; Jaiswal,
29 2008).

30 Considerando o desenvolvimento folicular, a população folicular ovariana pode
31 ser dividida em duas fases: fase pré-antral e antral (Araújo et al., 2014). A fase pré-
32 antral caracteriza-se pela formação, ativação e início do crescimento de folículos
33 denominados pré-antrais ou não cavitários (folículos primordiais, primários e
34 secundários) e representam 90% da população folicular ovariana, sendo responsáveis

1 pela renovação contínua dos folículos antrais (Guilbault et al. 1986; Saumande, 1991;
2 Araújo et al., 2014). Adicionalmente, na segunda fase, ocorre a formação de folículos
3 denominados antrais ou cavitários (terciários e pré-ovulatórios), caracterizados por uma
4 cavidade antral que contém fluido folicular e é constituído por um exsudato plasmático
5 secretado por células da granulosa e do oócito.

6 Os folículos pré-antrais não são dependentes de gonadotrofinas (FSH e LH)
7 para se desenvolverem, pois, seu estímulo é realizado por fatores intraovarianos e
8 locais. Já os folículos antrais são totalmente responsivos às gonadotrofinas para seu
9 desenvolvimento e maturação (Figueiredo et al., 2002; Seneda et al., 2008; Aerts; Bols,
10 2010; Magalhães et al., 2012; Araújo et al., 2014).

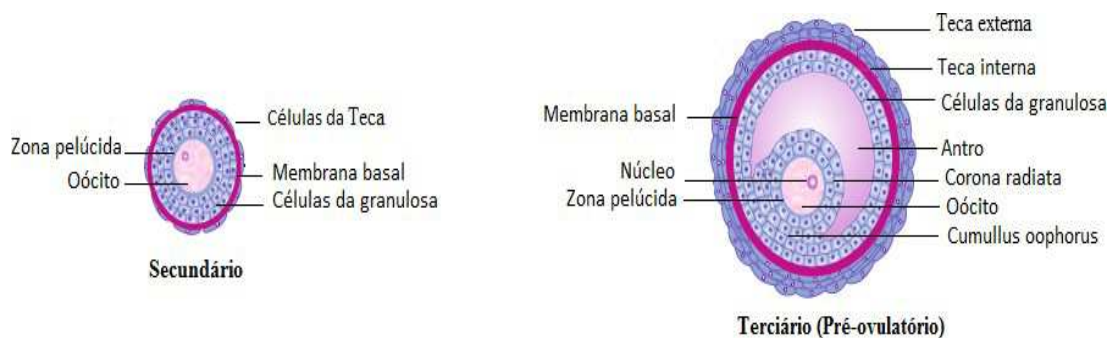
11 Os folículos primordiais não são renováveis e representam o *pool* de folículos
12 da reserva folicular durante toda vida do animal. Esses folículos possuem um oócito
13 circundado por uma única camada de células pré-granulosa (planas ou achatadas), que
14 por sua vez são circundadas por uma membrana basal (Araújo et al., 2014). Após a sua
15 formação, as células pré-granulosas param de se multiplicar e permanecem na fase de
16 repouso ou quiescência até que ocorra o recrutamento folicular (Soto-Suazo; Zorn,
17 2005; Van Den Hurck; Zhao, 2005; Araújo et al., 2014).

18 A evolução de folículos primordiais em folículos primários é caracterizada pela
19 ativação e crescimento do folículo, somado a mudanças morfológicas das células da
20 granulosa que circundam o oócito imaturo, que passam de aspecto achatadas para um
21 formato cuboide (Hulshof et al., 1994; Aerts; Bols, 2010; Sánchez; Smitz, 2012). Na
22 sequência, o oócito sofre aumento do volume e ocorre o início da formação da zona
23 pelúcida ao redor do oócito (Van Wezel; Rodgers, 1996), formação esta que permanece
24 durante todo o desenvolvimento folicular até a fase de ovulação (Seneda et al., 2010).
25 Em fetos bovinos, os folículos primários possuem diâmetros entre 40 a 60 μm (Beckers
26 et al., 1996).

27 Mediante a ação de fatores parácrinos intraovarianos, o folículo primário se
28 transforma em folículo secundário. Nesta fase ocorre o aumento do tamanho do oócito,
29 o desenvolvimento e caracterização da zona pelúcida e o surgimento das primeiras
30 células da teca (Van Den Hurk et al., 2000). Com duas ou mais camadas de células da
31 granulosa (Hulshof et al., 1994), nesta etapa o folículo atinge um diâmetro próximo de
32 200 μm (Hirshfield et al, 1992). Ao fim desse estágio, já apresentam responsividade às
33 gonadotrofinas (Van Den Hurk et al., 2000).

Os folículos antrais (terciários e pré-ovulatórios) são caracterizados por um oócito circundado pela zona pelúcida, envolto pela corona radiata e pelas células do *cumulus*, que por sua vez conectam o oócito às várias camadas de células da granulosa. Além de duas camadas de células tecais (teca interna e teca externa; Gordon, 1994; Aerts; Bols, 2010) e membrana basal (Driancourt, 1991).

Figura 1 - Características anatômicas do folículo secundário e terciário.

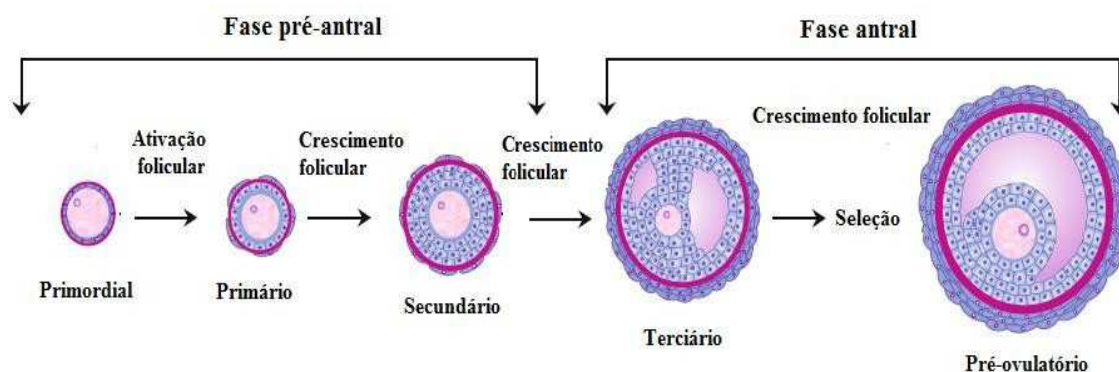


Fonte: Adaptado de Araújo et al. (2014).

A produção do fluido antral é intensificada durante o desenvolvimento do folículo pelo aumento da vascularização folicular e permeabilidade de vasos sanguíneos, promovendo um grande aumento no tamanho dos folículos e servindo como fonte de substâncias regulatórias provenientes do sangue ou de secreções das células foliculares (Van Den Hurk; Zhao, 2005). Esse importante evento fisiológico precede os processos de seleção e de dominância folicular (Seneda et al., 2010). O crescimento folicular nesta fase se diferencia dos estágios foliculares anteriores, pela produção e liberação de hormônios esteroides e outros peptídeos, e uma forte dependência da ação de hormônios gonadotróficos e hormônios esteroides (Seneda et al., 2010), que atuam por mecanismos parácrinos (essenciais para a manutenção da viabilidade oocitária) e endócrinos (Figueiredo et al., 2002; Fortune et al., 2004).

Durante o desenvolvimento folicular, após a formação do antro e acúmulo do fluido folicular antral, é possível o acompanhamento ultrassonográfico *in vivo* do folículo (≥ 2 mm) até seu estágio final culminando em atresia ou ovulação (Seneda et al., 2010).

1 **Figura 2** – Sequência esquemática do desenvolvimento folicular ovariano.



2

3 Fonte: Adaptado de Araújo et al. (2014).

4

5 2.2 FISILOGIA DO CICLO ESTRAL

6

7 2.2.1 Controle Endócrino do Ciclo Estral

8

9 O estro nos bovinos se configura por mudanças fisiológicas e
 10 comportamentais as quais se evidenciam pela receptividade sexual. O ciclo estral se
 11 caracteriza por acontecimentos que ocorrem entre o início de um estro e se finaliza
 12 com o início do próximo. Os ciclos estrais na espécie bovina se repetem ao longo do
 13 ano, sendo assim, a fêmea bovina é considerada poliéstrica anual (Mies Filho, 1977;
 14 Roche, 1996). O ciclo estral possui uma duração média de 21 dias e pode ser dividido
 15 em duas etapas: fase folicular (proestro e estro) e fase luteínica (metaestro e diestro),
 16 sendo semelhante entre fêmeas zebuínas e taurinas (Sirois; Fortune, 1988; Barros;
 17 Figueiredo; Pinheiro, 1995). A puberdade em novilhas taurinas ocorre entre 6 a 12
 18 meses de idade quando atingem 40 a 50% do peso adulto (Youngquist e Threlfall,
 19 2007) e em zebuínas, quando atingem 60 a 70% do peso adulto, por volta de 15 a 18
 20 meses de idade (Nogueira, 2006).

21 O ciclo estral apresenta um padrão cíclico da atividade ovariana, podendo
 22 apresentar duas ou três ondas foliculares (Guinther et al., 1989). Cada onda de
 23 crescimento folicular caracteriza-se pela ativação de um grupo de folículos antrais e
 24 seleção de um folículo dominante (FD), a medida que este se desenvolve, os demais
 25 folículos sofrem atresia. O FD pode seguir dois caminhos: a atresia (na presença de um
 26 corpo lúteo ativo) ou seguir para fase de maturação e ovulação (Forde et al., 2011). As

1 ondas de crescimento folicular são estabelecidas durante o período pré-puberal das
2 fêmeas e ocorrem durante todo o ciclo estral (Youngquist; Threlfall, 2007).

3 A fase folicular ou estrogênica, também designada de fase de pró-estro e estro
4 possui em média quatro a seis dias de duração e compreende o período após o
5 desaparecimento do corpo lúteo (CL) até o momento da ovulação. Esta fase é
6 caracterizada pela manifestação do estro e aceitação da monta (Forde et al., 2011),
7 processo este, decorrente da baixa concentração circulante de P4 (lise do CL) e do
8 incremento nos níveis séricos de estradiol (E2), correspondente ao aumento do diâmetro
9 do FD.

10 Neste período há maior secreção do GnRH pelo hipotálamo, o que estimula a
11 hipófise anterior a secretar FSH e LH. Desta maneira, a alta concentração de FSH
12 presente na corrente sanguínea das fêmeas, irá estimular o crescimento folicular. À
13 medida que os folículos crescem, ocorrerá a seleção do FD. Ao passo que o FD cresce,
14 há aumento da produção de E2 e inibina no fluido folicular, suprimindo a secreção de
15 FSH e levando a atresia dos demais folículos. O FD selecionado torna-se cada vez mais
16 sensível aos níveis de LH (Forde et al., 2011; Sunderland et al., 1994) e devido ao
17 aumento na frequência e amplitude dos pulsos de LH, ocorre a maturação final e a
18 ovulação do folículo pré-ovulatório (aproximadamente 27 horas em zebuínos e 26 horas
19 em taurinos após o início do estro; Baruselli et al., 2007; Roche, 1996), promovendo
20 assim, a liberação do oócito na tuba uterina, o qual se deslocará até o oviduto para a
21 fecundação (Forde et al., 2011). Em seu ponto ótimo de maturação, o folículo atinge
22 diâmetro máximo entre 16 a 20 mm antes de ocorrer a ovulação (Adams; Jaiswal.,
23 2008).

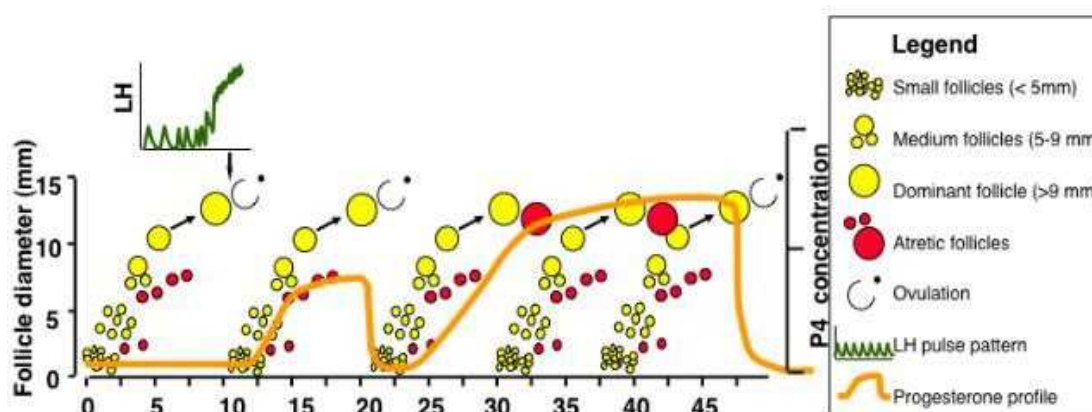
24 Logo após a ovulação, inicia-se a fase lútea ou progesterônica, com duração
25 de 14 a 18 dias, dividida em dois estágios, metaestro (1- 4 dias; caracterizada pela
26 liberação do óvulo e início da formação do CL a partir do corpo hemorrágico
27 resultante da ovulação do FD) e diestro (5-17 dias; caracterizada pelo
28 desenvolvimento do CL). Esta é a fase de maior duração do ciclo estral. O CL
29 (formado pela luteinização das células da granulosa e da teca interna) é o responsável
30 pela produção de P4 e pela manutenção da gestação (Forde et al., 2011).

31 Caso não ocorra a fecundação, o CL irá regredir dentro de 17 dias após o
32 estro (fase do diestro), possibilitando a ocorrência de um novo ciclo estral. Apesar
33 das concentrações circulantes de P4 permanecerem elevadas neste período, os
34 folículos recrutados continuam o seu desenvolvimento em decorrência a secreções

1 contínuas de FSH pela hipófise anterior. Entretanto, os folículos ativados nesta etapa
 2 não ovulam devido ao *feedback* negativo determinado pela alta concentração de P4, o
 3 que resulta em pulsos insuficientes de LH para promover a ovulação, sofrendo assim
 4 atresia folicular (Crowe, 2008).

5

7 **Figura 3** – Esquema representativo do crescimento folicular em vacas.



6

8 Fonte: <https://www.intechopen.com/books/gonadotropin/regulation-and-differential-secretion-of-gonadotropins-during-post-partum-recovery-of-reproductive-f>

9

11 2.2.2 Dinâmica Folicular Ovariana no Ciclo Estral

12

13 O crescimento e a maturação dos folículos ovarianos são processos
 14 fundamentais na eficiência reprodutiva. Ainda na vida fetal é estabelecido um número
 15 fixo de folículos primordiais, que com o crescimento do feto, passam por um período de
 16 desenvolvimento independente e dependente de gonadotrofinas (Webb et al., 2004).

17 A dinâmica folicular é um processo cíclico caracterizado por quatro fases:
 18 ativação (emergência), desvio folicular (divergência), fase de dominância, atresia
 19 folicular ou ovulação, controladas por mecanismos específicos (Senger et al., 2003),
 20 pelo eixo hipotálamo-hipófise por meio da ação dos hormônios gonadotróficos
 21 (Gregory et al., 2009).

22 O início do desenvolvimento do *pool* de folículos antrais é influenciado pelo
 23 aumento na secreção do hormônio FSH, de modo que esta gonadotrofina promove o
 24 início da emergência de uma onda de crescimento folicular, caracterizada pelo
 25 recrutamento de um grupo de folículos (Sunderland et al., 1994). Nas células da
 26 granulosa, há receptores de FSH, que permitem a sinalização, o crescimento e a
 27 proliferação celular (Ginther et al., 2002). O aumento sérico do FSH induz a atividade

1 da enzima aromatase, responsável por converter andrógeno em estrógeno (Hillier,
2 1994).

3 Após a emergência da onda folicular e seleção do folículo, ocorre o desvio
4 folicular (aproximadamente três dias após a emergência da onda folicular), fato
5 relacionado a diferença nas taxas de crescimento entre o maior e o segundo maior
6 folículo nos ovários e é determinado quando o folículo selecionado (folículo dominante)
7 atinge diâmetro aproximado de 8,0 mm (Ginther et al., 1999). Após o desvio, o FD
8 continua seu desenvolvimento numa taxa de crescimento diário de 0,92 mm (Figueiredo
9 et al., 1997), enquanto o restante dos folículos tem seu desenvolvimento reduzido,
10 dando início ao processo de atresia (Sartori et al., 2014).

11 Com a expansão do FD, ocorre aumento da concentração de E2 e inibina no
12 fluido folicular, suprimindo assim, a secreção de FSH na hipófise anterior por *feedback*
13 negativo (Sunderland et al., 1994). O FD selecionado continua assim seu crescimento
14 pela presença de maior número de receptores de LH nas células da granulosa e da teca
15 (Crowe, 2008; Forde et al., 2011).

16 Ainda segundo Forde et al. (2011), se nesta fase, a amplitude e frequência dos
17 pulsos de LH forem insuficientes (20 a 30 pulsos em 24 horas), o FD recrutado sofre
18 atresia, interrompendo concomitantemente a secreção de E2 e inibina, interrompendo
19 assim, o *feedback* negativo sobre a secreção de FSH na hipófise anterior e
20 proporcionando o início de uma nova emergência folicular. Entretanto, na onda
21 ovulatória, se houver o aumento no diâmetro do FD aliado a alta concentração de E2 no
22 fluido folicular, acarretará em maior secreção de GnRH pelo hipotálamo, resultando no
23 aumento da amplitude e frequência dos pulsos de LH, propiciando a maturação final e a
24 ovulação do FD (Sunderland et al., 1994; Crowe, 2008).

25 Entretanto, fatores adicionais relacionados a condição corporal ou reserva de
26 gordura corporal podem influenciar a dinâmica folicular. Como por exemplo a
27 kisspeptina e a leptina (sinaliza o aspecto energético do animal), dois peptídeos que
28 promovem uma estimulação indireta na liberação de GnRH no hipotálamo e a
29 potencialização na liberação de LH pela hipófise (Oliveira, 2016; Araújo; Oliveira,
30 2018). Além disso, resultados de estudos recentes levam a crer que sem a sinalização
31 por parte da leptina e kisspeptina (exercem uma ação permissiva para a atividade
32 reprodutiva) de que as reservas de tecido adiposo (reserva de gordura) do indivíduo
33 sejam favoráveis, a maturação e a função do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal não
34 aconteça ou sejam prejudicadas, ou seja, atrasando a puberdade ou havendo falhas na

1 sinalização da secreção de GnRH, conseqüentemente afetando a secreção de LH e a
2 ovulação. Pois a atividade reprodutiva por não ser uma atividade vital para a
3 sobrevivência, ao sinal de balanço energético negativo, o organismo desvia a energia
4 restante para processos fisiológicos que afetam a sobrevivência do indivíduo (Araújo;
5 Oliveira, 2018).

6

7 2.2.3 Dinâmica do Corpo Lúteo no Ciclo Estral

8

9 Após a ovulação, ocorrem alterações morfológicas celulares primeiramente
10 formando o corpo hemorrágico. Na sequência, por ação do LH, as células da granulosa
11 e da teca sofrem luteinização, formando assim, o CL (Youngquist; Threlfall, 2007),
12 uma glândula endócrina, ovariana e transitória (Giometti et al., 2009). O CL torna-se
13 ativo 1 a 2 dias após sua formação, apresentando função plena após o 5° dia.
14 Geralmente, a partir do 3° dia, já ocorre aumento na secreção de P4, se mantendo
15 relativamente constante até a regressão fisiológica do CL, que ocorre em torno do 16°
16 dia para ciclo estral de duas ondas de crescimento folicular ou no 19° dia para o ciclo de
17 três ondas (Adams; Jaiswal, 2008). Sua função é produzir concentrações suficientes de
18 P4 durante a fase lútea do ciclo estral, seja para impedir o comportamento de estro ou
19 para manter a gestação (Bazer et al., 2010; Lamb, et al., 2010; Pohler et al., 2012).

20 A regressão do CL é atribuída a presença do fator luteolítico prostaglandina
21 F2 α , o qual é ativado pela ligação da ocitocina a seus receptores localizados no útero,
22 induzindo assim a secreção de PGF2 α no endométrio uterino. Esta regressão acontece
23 por um mecanismo de contracorrente entre a veia uterina e a artéria ovariana que
24 permite a passagem da PGF2 α da veia para a artéria (Forde et al., 2011).
25 Conseqüentemente, a lise do CL promove a redução da concentração de P4 circulante,
26 deixando de suprimir (*feedback* negativo) a liberação de GnRH pelo hipotálamo e a
27 secreção de FSH e LH pela hipófise, e faz o animal entrar na fase folicular novamente
28 (Hafez; Hafez, 2004).

29 No entanto, caso ocorra a gestação, o reconhecimento materno transcorre entre
30 o 15° e o 17° dia do ciclo estral, devido a presença do *interferon-tau* (IN Ft) produzido
31 pelo trofoblasto do embrião em desenvolvimento, impedindo assim a luteólise, e
32 mantendo a gestação (Lamb et al., 2010).

33

2.3 DIFERENÇAS ENTRE ANIMAIS TAURINOS E ZEBUÍNOS

Diferenças reprodutivas entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* já foram observadas e devem ser levadas em consideração ao fazer o uso de algumas biotecnologias da reprodução (Baruselli et al., 2007). Dados da literatura demonstram diferenças no número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral. Animais *Bos t. taurus* (taurinos) apresentam maior predominância de ciclo estral de duas e três ondas de crescimento folicular (Savio et al., 1988; Sirois e Fortune, 1988; Ginther et al., 1989; Wolfenson et al., 2004). Entretanto, em *Bos t. indicus* (zebuínos), é descrita maior ocorrência de três ondas de crescimento folicular, sendo relatada em alguns trabalhos a incidência de até quatro ondas por ciclo estral (Rhodes et al., 1995; Figueiredo et al., 1997; Viana et al., 2000).

Segundo Carvalho et al. (2008), quando comparado *Bos t. indicus* e *Bos t. taurus*, nas fêmeas zebuínas ocorre o recrutamento de um maior número de folículos antrais durante a emergência da onda folicular ($33,4 \pm 3,2$ vs $25,4 \pm 2,5$ folículos), respectivamente. Em sessões de aspiração folicular, foi observado um maior número de oócitos recuperados de fêmeas *Bos t. indicus* (média de 18 a 25 oócitos; Watanabe et al., 1999; Thibier, 2004) em relação a taurinas (média de 4 a 14; Rubin et al., 2005; Martins et al., 2007). Além disso, foi observado que fêmeas taurinas (Angus) atingem a puberdade e a maturidade sexual mais precocemente (Rodrigues et al., 2002) e possuem uma duração do estro mais prolongada ($16,3 \pm 4,8$ vs $12,9 \pm 2,9$ horas) do que fêmeas zebuínas (Nelore; Mizuta, 2003). Porém fêmeas *Bos t. taurus* apresentam menor CFA e menor concentração plasmática de AMH quando comparadas com *Bos t. indicus* (Baldrighi, et al., 2014).

Uma possível explicação para a maior CFA nos ovários de zebuínos pode estar relacionada a elevada concentração plasmática de IGF-I, mesmo na presença de baixos níveis de FSH, e essa condição pode resultar na ativação de maior número de folículos durante a emergência da onda folicular nesses animais (Bó et al., 2003). Entretanto, quando se observa o diâmetro máximo alcançado pelo folículo dominante em cada onda de crescimento folicular, nota-se uma diferença fisiológica entre animais taurinos e zebuínos. Em *Bos t. taurus* são descritos diâmetros de 17,1 e 16,5 mm para a primeira e segunda onda, respectivamente (Ginther et al., 1989). Já em *Bos t. indicus*, são relatados diâmetros de 11,3 e 12,1 mm, respectivamente (Figueiredo et al., 1997).

1 Ginther et al., (1989) relataram que, em casos da ocorrência de três ondas de
2 crescimento folicular, os diâmetros máximos observados para taurinos foram de 16,0;
3 12,9 e 13,9 mm, entretanto em zebuínos, foram encontrados diâmetros de 10,4; 9,4 e
4 11,6 mm, para primeira, segunda e terceira onda, respectivamente (Figueiredo et al.,
5 1997). Adicionalmente, já está bem estabelecido que fêmeas *Bos t. indicus* possuem
6 diâmetros de folículos dominantes e ovulatórios menores que fêmeas *Bos t. taurus*
7 (Martins et al., 2005; Baruselli et al., 2006; 2007).

8 Como consequência do menor diâmetro folicular, os zebuínos apresentam
9 menores dimensões do CL, variando de 17 a 21 mm de diâmetro (Rhodes et al., 1995;
10 Figueiredo et al., 1997) quando comparado com taurinos (CL com média de 20 a 30
11 mm; Ginther et al., 1989; Kastelic et al., 1990). Isso proporciona maiores produções de
12 P4 em *Bos t. taurus* quando comparado com animais *Bos t. indicus* (Randel, 1976;
13 Segerson et al., 1984; Baruselli, et al., 2007), pois a capacidade do CL em produzir P4
14 está relacionada ao número de células da granulosa presente no folículo ovulatório
15 (McNatty et al., 1979; Pfeifer et al., 2012).

16 17 2.4 POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA

18
19 A população folicular é uma característica extremamente variável no ovário
20 bovino (Ireland et al., 2008; 2011; Evans et al., 2012), podendo existir uma variação
21 individual entre 0 a 720.000 folículos por ovário (Erickson, 1986). Neste contexto, a
22 população folicular ovariana pode sofrer influência de vários fatores como genética
23 (Smith et al., 1994), raça (Cahill et. al., 1979), idade, níveis hormonais (Roy e Treacy,
24 1993), estados nutricional e reprodutivo, condição sanitária do animal, além do próprio
25 fator individual (Erickson, 1966; Betteridge, 1989). O número de folículos pré-antrais
26 varia de 143.930 a 285.150 folículos durante o desenvolvimento fetal, 235.000 a
27 250.000 folículos no nascimento (Betteridge, 1989; Ireland et al., 2008), 76.850 a
28 109.670 folículos em novilhas e 39.440 e 89.570 folículos em animais adultos (Silva-
29 Santos et al., 2011).

30 Apesar da maior representatividade numérica de folículos pré-antrais no
31 ovário (Saumande, 1991) e deles serem os responsáveis em promover a renovação
32 dos folículos antrais (Guilbault et al., 1986), em torno de 99,9% da população destes
33 folículos pré-antrais acabam sofrendo um processo degenerativo ou apoptótico
34 conhecido por atresia folicular. Diante do exposto, e tendo em vista o potencial

1 numérico dos folículos formados na fase fetal, o ovário é considerado um órgão de
2 baixa produtividade (Ireland, 1987), pois, nesta fase é encontrado no órgão em torno
3 de dois milhões de células germinativas. No entanto, há um drástico declínio deste
4 número no último período da fase gestacional até o nascimento (Tanaka et al., 2001).

5 Neste cenário, a população folicular que verdadeiramente será utilizada
6 durante a vida reprodutiva, são os folículos presentes na ocasião da puberdade (Soto-
7 Suazo; Zorn, 2005; Van Den Hurk; Zhao, 2005), momento este o qual se inicia a
8 ativação e o desenvolvimento folicular (Nogueira et al., 2005). O processo cíclico de
9 atresia ou ovulação ao longo da vida pós-natal, leva ao declínio progressivo da
10 reserva folicular ovariana (Eggen et al., 2006).

11 12 2.4.1 Contagem da População de Folículos Antrais

13
14 O número de folículos antrais recrutados por ondas de crescimento folicular,
15 está associado de forma positiva com uma variedade de medidas indiretas de
16 fertilidade. O bovino é uma espécie adequada para avaliar a variação de folículos
17 antrais durante as ondas de crescimento folicular, já que ovula, na maioria das vezes,
18 um oócito e ocorre atresia de forma relativamente longa durante o ciclo estral (Ireland
19 et al., 2008).

20 O número total de folículos $\geq 3\text{mm}$ durante a onda folicular é variável entre os
21 animais da mesma idade, mas é altamente repetível durante os ciclos reprodutivos nos
22 indivíduos (Jimenez-Krassel et al., 2007; Mossa et al., 2010 a,b; Silva-Santos et al.,
23 2011; Morotti et al., 2017), independente do número de ondas foliculares, da estação do
24 ano, estágio de lactação ou categoria da fêmea (novilha e vaca; Burns et al., 2005).

25 A ultrassonografia pode ser utilizada de forma eficiente para identificar a
26 população de folículos antrais durante as ondas foliculares (Burns et al., 2005) e possui
27 correlação positiva entre a contagem visual dos folículos e a população real de folículos
28 antrais nos ovários (Ireland et al., 2007; Cushmann et al., 2009).

29 Na espécie bovina é possível identificar as fêmeas com baixo, intermediário ou
30 alto número de folículos durante as ondas foliculares mediante um único exame de
31 ultrassom (Ireland et al., 2007; Guerreiro et al., 2014; Silva-Santos et al., 2014a, 2014b),
32 podendo esta repetibilidade ser utilizada como um recurso estratégico para classificar
33 um animal quanto a dimensão da população de folículos antrais. Ainda neste contexto, a

1 CFA pode estar relacionada com o tamanho da reserva ovariana em vacas (Ireland et al.,
2 2011; Mossa et al., 2017).

3 Quando comparadas vacas taurinas com alta e baixa CFA, aquelas com alta
4 CFA possuem maior número total de folículos morfologicamente saudáveis (Ireland et
5 al., 2008, 2011), tem 3,34 vezes mais chances de ficarem gestantes, necessitam de
6 período de estação de monta menor, e um maior número de embriões recuperados e
7 transferíveis (Mossa et al., 2012), além de um maior número de oócitos e blastocistos
8 (Guerreiro et al., 2014). Adicionalmente, animais *Bos t. taurus* com alta CFA
9 demonstraram ter um menor intervalo parto primeira inseminação e maiores taxas de
10 concepção à primeira inseminação e concepção geral do rebanho (Martinez et al., 2016).

11 Bovinos leiteiros com baixa CFA (< 15 folículos), quando comparados com
12 aqueles de alta CFA (>25 folículos), foram associados a diversas características de
13 redução na fertilidade tais como ovários menores, menor número de folículos e oócitos
14 nos ovários (Ireland et al., 2008; 2011; Mossa et al., 2012), e menores chances de
15 gestarem no final da estação reprodutiva (Mossa et al., 2012).

16 Ainda neste contexto, a CFA em vacas holandesas foi relacionada a uma
17 característica hereditária moderada e também influenciada pelo *status* de lactação e
18 qualidade do leite, mas não pela produção de leite (Walsh et al., 2014).

19 Outros autores relataram que bovinos com baixa CFA apresentam secreção
20 aumentada de FSH, reduzida produção de progesterona (Evans et al., 2010, Ireland et
21 al., 2011), reduzida resposta a superovulação (Sinch et al., 2004; Ireland et al., 2007,
22 Silva-Santos et al., 2013), reduzida espessura endometrial, menor concentração de
23 hormônio anti-Mülleriano (AMH) e menor vida produtiva no rebanho (Jimenez-Krassel
24 et al., 2009; 2015). Adicionalmente, a baixa concentração de progesterona foi associada
25 à alta taxa de mortalidade embrionária em comparação com animais da mesma idade e
26 CFA superior (Diskin e Morris, 2008).

27 Diante deste panorama, estudos realizados com *Bos t. taurus* submetidos a
28 programas de inseminação artificial relataram maiores taxas de prenhez quando a alta
29 CFA foi detectada (Cushman et al., 2009; Evans et al., 2012; Mossa et al., 2012).

30 Portanto, todo este contexto relatado até aqui, configuram características reprodutivas
31 de fertilidade reduzida para fêmeas com baixa CFA. É válido destacar que tais estudos
32 foram conduzidos especialmente em animais taurinos (corte e leite) e na grande maioria
33 tratam de trabalhos que foram conduzidos fora do Brasil. Em contrapartida, trabalhos
34 realizados no Brasil com animais *Bos indicus* e seus cruzamentos, não observaram a

1 mesma correlação entre alta CFA e prenhez quando submetidos à inseminação artificial
2 em tempo-fixo (IATF; Mendonça et al., 2013; Santos et al., 2014; 2016; Morotti et al.,
3 2018), notando-se uma influência da alta CFA com efeito positivo apenas sobre o
4 número de embriões produzidos (Silva-Santos et al., 2014b; Morotti et al., 2015).

5 Em um estudo recente Jimenez-Krassel et al. (2017) relataram dados
6 conflitantes com o que foi encontrado anteriormente em outros trabalhos com *Bos t.*
7 *taurus* (raça Holandesa) e observaram que as vacas de alta CFA tiveram um maior
8 período de dias em aberto e menor porcentagem de vacas gestantes ($p < 0,05$), menor
9 número de lactações iniciadas e concluídas ($p < 0,02$), 180 dias a menos de vida
10 produtiva ($p < 0,01$) e maior probabilidade de serem descartadas no primeiro parto e na
11 primeira lactação quando comparadas com as vacas de baixa contagem.

12 Outro aspecto crítico relacionado aos fatores reprodutivos e a CFA se refere à
13 variação em sua classificação. Alguns trabalhos classificam como baixa CFA um
14 número de folículos ≤ 10 (Santos et al., 2016), outros ≤ 15 (Burns et al., 2005; Ireland et
15 al., 2009; Mossa et al., 2012) e outros ainda ≤ 20 (Martinez et al., 2016). Ou seja, o que
16 alguns trabalhos consideram como baixa CFA são classificados como intermediário em
17 outros estudos (16 a 24 folículos; Burns et al., 2005; Jimenez-Krassel et al., 2017),
18 resultando em uma inconsistência entre as classificações. A variabilidade nas CFAs
19 pode estar relacionada às diferenças de subespécies (taurinos vs zebuínos; Tabela 1), de
20 rebanhos, manejos, fatores nutricionais e de ambiente dificultam a interpretação dos
21 resultados e o real conhecimento da influência da população de folículos antrais sobre o
22 desempenho reprodutivo em fêmeas bovinas.

23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

1 **Tabela 1.** Classificação da população de folículos antrais em alta, intermediária e baixa
 2 contagem folicular em vacas taurinas e zebuínas segundo diversos grupos de
 3 pesquisadores.

Autoria	Subespécie	Aptidão CFA média	CFA			
			Alta	Intermediária	Baixa	
Burns et al. 2005	<i>Bos t. taurus</i>	Leite	21,5	≥ 25	16 a 24	≤ 15
Ireland et al. 2008	<i>Bos t. taurus</i>	Corte	21,5	≥ 25	16 a 24	≤ 15
Mossa et al. 2012	<i>Bos t. taurus</i>	Leite	18,5	≥ 25	16 a 24	≤ 15
Martinez et al. 2016	<i>Bos t. taurus</i>	Leite	23,3 \pm 0.7	≥ 30	21 a 29	≤ 20
Rodrigues et al. 2015	<i>Bos t. indicus</i>	Corte	44,27 \pm 0,89	≥ 48	32 a 48	≤ 32
Santos et al. 2016	<i>Bos t. indicus</i>	Corte	19,6 \pm 10,7	≥ 25	16 a 20	≤ 10
Morotti et al. 2018	<i>Bos t. indicus</i>	Corte	21	≥ 45	12 a 40	≤ 15

4
 5 Adicionalmente, estudos anteriores realizados com zebuínos no Brasil, revelam
 6 que a CFA não tem influência sobre a taxa de concepção de vacas submetidas a
 7 protocolos de IATF (Barreiros et al., 2014; Santos et al., 2016), embora outro trabalho
 8 aponta aspecto positivo para a menor CFA (Morotti et al., 2018).

9 Diante destes aspectos, estudos com *Bos t. taurus* (raça Holandesa) nas
 10 condições Brasileiras de criação, manejo e clima, irão contribuir para o melhor
 11 entendimento da caracterização da população de folículos antrais e de sua influência no
 12 desempenho reprodutivo, já que a maior parte dos trabalhos da base de dados foram
 13 realizados na Europa e EUA.

14

15 2.4.2 Influência da População Folicular nas Biotecnologias da Reprodução

16

17 Considerando a importância das biotecnologias reprodutivas para o
 18 melhoramento genético do rebanho, é encontrada na literatura uma grande variabilidade
 19 de resultados quando se relaciona a CFA e o desempenho na inseminação artificial e na
 20 produção de embriões tanto em vacas taurinas quanto em zebuínas.

1 Trabalhando com vacas da raça Holandesa submetidas à inseminação artificial
2 sem o uso de tratamentos superovulatórios ou indutores de ovulação, Mossa et al.
3 (2012) sugeriram diferenças nas taxas de prenhez geral de vacas de baixa CFA (≤ 15),
4 intermediária (16 a 24) e alto número de folículos ≥ 3 mm de diâmetro, sendo
5 encontrado resultado final de prenhez de 84, 88 e 94%, respectivamente. Menor taxa de
6 prenhez no primeiro serviço no grupo de baixa CFA ($p < 0,05$) e um maior intervalo
7 entre o parto e a concepção comparando o grupo de baixa (117,1 \pm 4 dias) e de alta CFA
8 (109,5 \pm 1).

9 Corroborando com estes dados, Martinez et al. (2013), também trabalhando
10 com animais taurinos de aptidão leiteira (raça Holandesa e Jersey), encontraram maior
11 taxa de concepção à primeira inseminação artificial no grupo de alta CFA (> 30
12 folículos) quando comparada com as vacas de baixa população folicular (< 20 folículos;
13 66,5% e 45,2%, respectivamente).

14 Entretanto, Jimenez-Krassel et al. (2017) encontraram resultados divergentes
15 aos citados anteriormente, utilizando rebanho em que os animais eram submetidos a
16 protocolos de indução da ovulação (Ovsynch) como prática rotineira de manejo. Neste
17 estudo, foi observada a melhor performance reprodutiva nos animais de baixa CFA e as
18 novilhas com ≥ 25 folículos antrais (> 3 mm) tinham menor fertilidade e menor vida
19 produtiva comparadas com suas contemporâneas com menor população folicular.

20 Adicionalmente, em animais *Bos t. indicus* submetidos a protocolos de
21 sincronização da ovulação (IATF) foram observados resultados contraditórios por
22 diversos pesquisadores no Brasil (Tabela 2).

23

24 **Tabela 2.** Taxa de prenhez de zebuínos submetidos à IATF de acordo com a contagem
25 de folículos antrais.

Autor	Grupos de CFA	CFA	Prenhez (%)	Nº Animais
Rodrigues et al., 2015	Alta	≥ 48	31,2	218
	Intermediária	32 a 48	35,9	171
	Baixa	≤ 32	51,6	206
Santos et al., 2016	Alta	≥ 25	51,9	183
	Intermediária	11 a 24	48,6	183
	Baixa	≤ 10	58,5	181
Morotti et al., 2018	Alta	≥ 45	49,50 ^b	194
	Intermediária	20 a 40	52,90 ^b	397
	Baixa	≤ 15	61,70 ^a	243

26

^{a-b} Letras diferentes indicam diferença estatísticas ($p < 0,05$).

1 Já na produção de embriões, há alguns fatores importantes que podem
2 influenciar o resultado final, como: a taxa de aspiração de oócitos e a resposta
3 ovulatória das doadoras (Taneja et al., 2000; Ireland et al., 2011; Silva-Santos et al.,
4 2014a), os quais, estão relacionados quantitativamente com o número de folículos
5 recrutados durante a fase do ciclo reprodutivo e o período do procedimento (Taneja et
6 al., 2000; Sinch et al., 2004; Ireland et al., 2008). Neste cenário, muitos estudos
7 encontraram associação positiva entre a alta contagem de folículos antrais e a produção
8 de embriões “in vitro” e “in vivo” (Morotti et al., 2015).

9 Em vacas taurinas de aptidão leiteira classificadas com baixa CFA (≤ 15
10 folículos) foi encontrada menor produção de embriões quando comparadas com animais
11 de alta CFA (≥ 25 folículos), tanto na técnica “in vivo” por superovulação (SOV; 3,8 vs
12 5,4 embriões), como na produção “in vitro” de embriões (PIV; 1,3 vs 4,9 embriões),
13 respectivamente (Ireland et al., 2007). No Brasil, comparando a produção de embriões
14 de três raças produtoras de leite: Holandesa (HOL; *Bos t. taurus*), Gir (*Bos t. indicus*) e
15 animais Girolando (mestiços *Bos t. indicus* e *Bos t. taurus*; 1/4 HOL e 3/4 Gir), foi
16 avaliado o número de oócitos viáveis e o número médio de embriões produzidos “in
17 vitro”. Para animais taurinos observou-se $8,0 \pm 2,7$ oócitos e 2,1 embriões, para
18 zebuínos, $12,1 \pm 3,9$ e 3,2 e para animais cruzados $16,8 \pm 5,0$ e 3,9, respectivamente (p
19 $< 0,01$; Pontes et al., 2010), demonstrando a maior produção embrionária em animais
20 zebuínos e mestiços.

21 Neste contexto, em vacas Nelore distribuídas em grupos de Alta (≥ 40
22 folículos), intermediária (18 a 25 folículos) e baixa CFA (≤ 7 folículos) foi observado
23 valores superiores de taxas de blastocistos quando submetidas à OPU/PIV, 42, 32 e
24 13%, respectivamente ($p < 0,05$; Santos et al., 2016). Já em animais mestiços foi
25 observada maior produção de embriões $6,9 \pm 5,3$ vs $1,9 \pm 2,1$, quando comparado
26 fêmeas de alta (≥ 40) e baixa CFA (≤ 10 ; Silva-Santos et al., 2014a).

27 Corroborando com esses autores, Nagai et al. (2016) trabalhando com
28 OPU/PIV em vacas holandesas, relataram que oócitos aspirados de vacas com alta CFA
29 (≥ 25 folículos; média $37,4 \pm 10,2$) têm maior competência para fertilização quando
30 comparados com oócitos de vacas de baixo CFA (< 25 folículos; média $16,7 \pm 4,7$), $p <$
31 0,01.

32
33
34

2.5 ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL E PESO

A avaliação do escore da condição corporal (ECC) é um monitoramento visual da situação nutricional da vaca e pode ser realizado facilmente por uma pessoa treinada mediante a atribuição de escores numa escala de 1 a 5 (Ferguson et al., 1994). As faixas de pontuações variam em 0,25 ponto para mais ou para menos, sendo 1 uma vaca muito magra e 5 muito gorda, concentrando as pontuações mais precisas entre 2,5 a 4,0. Pontuações fora deste intervalo são extremas e podem indicar problemas.

O ECC é uma importante ferramenta para avaliar o balanço energético do rebanho (Machado et al., 2008) e uma boa estratégia para ter um melhor controle sobre o desempenho reprodutivo uma vez que a fertilidade é afetada negativamente pelo baixo ECC (Cutullic et al., 2012). Vacas que perdem ou mantêm a condição corporal durante o período de lactação, podem apresentar um maior intervalo entre o parto e a primeira manifestação de cio, além de menor taxa de concepção quando comparadas com fêmeas que ganharam peso após o parto (58% vs 76%), respectivamente (Ciccioli et al., 2003). Adicionalmente, em vacas leiteiras já foi relatado uma associação entre o ECC ao parto e ao momento da primeira inseminação artificial, em que os animais com menores condições corporais nestes dois momentos também demonstravam ter superiores taxas anovulatórias aos 65 dias pós-parto (n = 6396), sendo este efeito mais pronunciado em animais com ECC menor que 2,75 na escala de pontuação (Santos et al., 2009).

Assim como o ECC, o peso corporal (PC) também é uma característica importante a ser observada e monitorada em animais submetidos à reprodução, pois a perda de PC já foi associada ao menor desempenho reprodutivo em vacas. Geralmente esta perda de PC é observada após o parto, sendo influenciada principalmente pelo balanço energético negativo (BEN; Gross et al., 2011), devido a alterações metabólicas e a baixa capacidade de ingestão alimentar pelos animais (Roche, 2006).

Em contrapartida, vacas com excesso de peso foram associadas a menor capacidade de ingestão de matéria seca quando comparadas as vacas com condições de PC próximas ao ideal, e ainda, quanto maior o BEN e maior a perda de PC nestes animais, maiores são as chances de resultados reprodutivos inadequados (Butler, 2000).

Poncheki et al. (2015), trabalhando com vacas taurinas leiteiras em lactação, monitoradas quanto ao ganho ou perda de PC no período em que estavam aptas a reprodução e submetidas a inseminação artificial, observaram que as vacas com baixa e média perda de PC (abaixo 60 kg de PV) apresentaram maior probabilidade ($p < 0,01$)

1 de obter índices reprodutivos adequados do que vacas com alta perda de PC (acima de
2 60 kg de PV), demonstrando que o PC pode influenciar no sucesso ou insucesso em
3 conceber pelos animais.

4 Neste contexto, o ECC e o peso dos animais sofrem influência do balanço
5 energético, afetando o desempenho reprodutivo por alterar o desenvolvimento folicular
6 e os perfis hormonais, principalmente no pós-parto das vacas, pelo efeito combinado da
7 gestação anterior e do impacto da lactação no metabolismo destes animais (Santos et al.,
8 2008).

9 Em vacas leiteiras, a seleção genética buscando aumento na produção de leite
10 alterou aspectos fisiológicos da reprodução em resposta às demandas de nutrientes pela
11 glândula mamária (Butler, 2003; Wiltbank et al., 2006). Portanto, vacas com ingestão
12 insuficiente de nutrientes para suprir as necessidades de produção e manutenção,
13 manterão a produção de leite às custas dos tecidos corporais e da excessiva mobilização
14 de gordura corpórea, levando a perdas de PC (Leroy et al., 2005). Neste contexto, o
15 menor aporte nutricional relacionado ao elevado metabolismo nos animais, leva a
16 perdas de PC e de ECC, prejudicando a síntese de hormônios importantes para a
17 reprodução e promovendo alterações endócrinas como da insulina, GH, IGF e o
18 desacoplamento do sistema GH/ IGF (Butler et al., 2003). Consequentemente, isso
19 promove alterações metabólicas importantes para um desempenho reprodutivo
20 satisfatório.

21 Diante disso, muitos aspectos abordados na presente revisão necessitam ser
22 melhor investigados, pois apesar dos inúmeros trabalhos sobre a CFA, a sua relação
23 com a fertilidade do rebanho e com a eficiência das biotecnologias reprodutivas ainda
24 não são totalmente compreendidas. Várias lacunas relacionadas às particularidades
25 reprodutivas da espécie e subespécies bovinas, mas principalmente em animais taurinos
26 de aptidão leiteira em condições de criação do Brasil, necessitam de melhor
27 compreensão, a fim de permitir ajustes no manejo dos rebanhos e melhorar a eficiência
28 das biotecnologias da reprodução.

29
30
31
32
33
34

1 **REFERÊNCIAS**

- 2
3 ADAMS, G.P.; JAISWAL, R. Follicular dynamics in cattle: Historical overview and
4 research update. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, n.2, p.377-396, 2008.
5
6 AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian follicular dynamics: A review with emphasis on
7 the bovine species. Part I: Folliculogenesis and pre-antral follicle development.
8 **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.171-179, 2010.
9
10 ARAÚJO, V. R.; GASTAL, M.O.; FIGUEIREDO, J.R.; GASTAL, E.L. (2014). *In*
11 *vitro* culture of bovine preantral follicles: a review. **Reproductive Biology and**
12 **Endocrinology**, v.12, p.78–91, 2014.
13
14 ARAÚJO, J.; OLIVEIRA, R.A. A influência da nutrição e a atuação da leptina e
15 kisspeptina no ciclo reprodutivo da égua. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**,
16 v. 42, n.1, p. 09-14, 2018.
17
18 BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L. F. T.;
19 NOGUEIRA, M. F. G.; BARROS, C. M.; BO, G. A. Superovulation and embryo
20 transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 65, p.77-88, 2006.
21
22 BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de
23 fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 205-
24 211, 2007.
25
26 BARUSELLI, P. S.; BATISTA, E. O. S.; VIEIRA, L. M.; SOUZA, A. H. Relationship
27 between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. **Animal**
28 **Reproduction**, v. 12, n. 3, p. 487-497, 2015.
29
30 BATISTA, E.O.S.; MACEDO, G.G.; SALA, R.V.; ORTOLAN, M.D.D.V.; AS FILHO,
31 M.F.; DEL VALLE, T.A.; JESUS, E.F.; LOPES, R.N.V.R.; RENNO, F.R.;
32 BARUSELLI, P.S. Plasma Antimullerian Hormone as a Predictor of Ovarian Antral
33 Follicular Population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) Heifers.
34 **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.448-452, 2014.
35
36 BALDRIGHI, J.M.; FILHO, M.F.S.; BATISTA, E.O.S.; LOPES, R.N.V.R.; VISINTIN,
37 J.A.; BARUSELLI, P.S.; ASSUMPCÃO, M.E.O.A. Anti-Mullerian Hormone
38 Concentration and Antral Ovarian Follicle Population in Murrah Heifers Compared to
39 Holstein and Gyr Kept Under the Same Management. **Reproduction in Domestic**
40 **Animals**, v.49, p. 1015-1020, 2014.
41
42 BARREIROS, T.R.R.; HIDALGO, M.M.T.; NOVELLI, B.P.; MENDONÇA, H.G.R.;
43 SANCHES, A.C.S.; GUTJARH, C.A.; GIUDICISSI, P.L.; LASCHI, W. Effect of
44 cyclicity, body condition score and antral follicle count on the conception rate of
45 Nelore cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Animal Reproduction**,

- 1 v. 11, p.399, 2014.
2
- 3 BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro ovulação e dinâmica
4 folicular em Zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 1, p. 9-
5 22, 1995.
6
- 7 BAZER, F.W.; WU, G.; SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BURGHARDT, R.C.;
8 BAYLESS, K. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of
9 pregnancy in mammals. **Molecular Human Reproduction**, v. 16, p. 135-152, 2010.
10
- 11 BETTERIDGE, K.J.; SMITH, C.; STUBBINGS, R.B.; XU, K.P.; KING, W.A.
12 Potencial genetic improvement of cattle by fertilization of fetal oocytes in vitro.
13 **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 38, p. 87-98, 1989.
14
- 15 BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular
16 development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326,
17 2003.
18
- 19 BURNS, D.S.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; KNIGHT, P.G.;
20 IRELAND, J.J. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence
21 for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse
22 association with serum follicles-stimulating hormone concentrations. **Biology of**
23 **Reproduction**, v. 73, p.53-62, 2005.
24
- 25 BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.
26 **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 449-457, 2000.
27
- 28 BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation
29 and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 83, p. 211-
30 218, 2003.
31
- 32 BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S.H.; RADCLIFF, R.P.; LUCY, M.C.;
33 BUTLER, W.R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative
34 energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF- 1 and GH receptor 1A.
35 **Journal of Endocrinology**, v.176, p. 205-217, 2003.
36
- 37 CAHILL, L.P.; MARIANA, J.C.; MAULÉON, P. Total follicular populations in ewes of
38 high and lowovulation rates. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 55, p.27-36,
39 1979.
40
- 41 CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.M.; SOUZA, A.H.;
42 BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in
43 *Bos incicus*, *bos indicus* x *Bos Taurus*, and *Bos Taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69,
44 n.2, p. 167-175, 2008.
45
- 46 CICCIOLO, N.H.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J; LENTS, C.A.; WHITE, F.J.;
47 KEISLER, D.H. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on

- 1 endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. **Journal of**
2 **Animal Science**, v.81, p.3107-3120, 2003.
- 3
4 CROWE, M.A. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows.
5 **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n.5, p. 20-28, 2008.
- 6
7 CUSHMANN, R.A.; ALLAN, M.F.; KUENH, L.A.; SNELLING, W.M.; CUP, A.S.;
8 FREETLY, H.C. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in
9 crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, birth
10 weight. **Journal animal Science**, v.87, p. 1971 – 1980, 2009.
- 11
12 CUTULLIC, E.; DELABY, L.; GALLARD, Y.; DISENHAU, C. Dairy cows'
13 reproductive response to feeding level differs according to the reproductive stage and
14 the breed. **Animal**, v. 5, p. 731-740, 2010.
- 15
16 CUTULLIC, E.; DELABY, L.; GALLARD, Y. and DISENHAUS, C. Towards a better
17 understanding of the respective effects of milk yield and body condition dynamics on
18 reproduction in Holstein dairy cows. **Animal**, v.6:3, p. 476 - 487, 2012.
- 19
20 DE VRIES, A. Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle. **Journal of Dairy**
21 **Science**, v. 89, p. 3876-3885, 2006.
- 22
23 DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryonic and Early Foetal Losses in Cattle and Other
24 Ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p. 260-267, 2008.
- 25
26 DRIANCOURT, M.A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**, v. 35,
27 p. 55-71, 1991.
- 28
29 EGGAN, K.; JURGA, S.; GOSDEN, R.; MIN, I.M.; WAGERS, A.J. Ovulated oocytes
30 in adult mice derive from non-circulating germ cells. **Nature**, v.441, p.1109-1114,
31 2006.
- 32
33 ERICKSON, B.H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal**
34 **of Animal Science**, v.25, p.800-805, 1966.
- 35
36 ERICKSON, G.F. An analysis of follicle development and ovum maturation. **Seminars**
37 **in Reproduction Endocrinology**, v.4, p. 233-254, 1986.
- 38 ERICKSON, G.F., SHIMASAKI, S. The spatiotemporal expression pattern of the bone
39 morphogenetic protein family in rat ovary cell types during the estrous cycles.
40 **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p. 1-20, 2003.
- 41
42 EVANS, A.C. Inherent capacity of the pituitary gland to produce gonadotropins is not
43 influenced by the number of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter in cattle.
44 **Reproduction, Fertility, and Development**, v.22, p.550-557, 2010.
- 45
46 EVANS, A.C.O.; MOSSA, F.; WALSH, S.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL,
47 F.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J. Effects of Maternal Environment
48 During Gestation on Ovarian Folliculogenesis and Consequences for Fertility in Bovine
49 Offspring. **Reproduction in Domestic Animal**, v.47 (Suppl.4), p.31-37, 2012.
- 50

- 1 FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D.T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body
2 condition score in Holstein cows. **Journal Dairy Science**, v. 77, p. 2695-2703, 1994.
3
- 4 FERGUSON, J.D.; SKIDMORE, A. Reproductive performance in a select sample of
5 dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.96, p. 1269-1289, 2013.
6
- 7 FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLE, J. M. P. Ovarian
8 follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p.
9 1489-1505, 1997.
10
- 11 FIGUEIREDO, J.R.; RODRIGUES, A.P.R.; AMORIN, C.A. Manipulação de oócitos
12 inclusos em folículos pré-antrais – Moifopa. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO,
13 J.R., FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 1.ed. São Paulo:
14 Varela, 2002. p.340.
15
- 16 FIGUEIREDO, J. R.; RODRIGUES, A. P. R.; AMORIM, C. A.; SILVA, J. R. V.;
17 Manipulação de Oócitos Inclusos em Folículos Ovarianos Pré-Antrais - MOIFOPA. In:
18 Gonçalves, P. B. D; Figueiredo, J. R.; Freitas, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à**
19 **reprodução animal**. 2. ed., Roca: São Paulo, p.303-327, 2008.
20
- 21 FORDE, N.; BELTMAN, M.E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J.F.;
22 CROWE, M.A. Oestrous cycles in *Bos Taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**,
23 v.124, p.163-169, 2011.
24
- 25 FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: the role of the
26 follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal**
27 **Reproduction Science**, v.82/83, p.109-126, 2004.
28
- 29 GAINES, J.D. Analysis of reproductive efficiency of dairy herds. Proceedings for
30 annual meeting. Kansas City: **Society for Theriogenology**, p.86-107, 1994.
31
- 32 GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Role of low circulating FSH
33 concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave
34 in cattle. **Reproduction**, v.124, p.475-482, 2002.
35
- 36 GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant
37 follicle in cattle: Establishment of follicle deviation in less than 8 h through depression
38 of FSH concentrations. **Theriogenology**, v.52, p. 1079-1093, 1999.
39
- 40 GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian
41 events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **Journal of**
42 **Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-23-, 1989.
43
- 44 GIOMETTI, I.C., CASTILHO, A.C.S., SÁ FILHO, O.G., PAPA, P.C., BURATINI
45 JÚNIOR, J. Controle local e endócrino do desenvolvimento e da regressão do corpo
46 lúteo bovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, p.34-52, 2009.

- 1
2 GORDON, I. **Laboratory production of cattle embryo**. 1st ed. Cambridge: CAB
3 International: Raven Press, 1994.
4
- 5 GREGORY, R.M.; MELO, L.C.; BESKOW, A.; MATTOS, R.C.; JOBIM, M.I.M.;
6 GREGORY, J.W. Dinâmica follicular e uso de hormonioterapias na regulação do ciclo
7 estral. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n.6, p.148-152, 2009.
8
- 9 GROSS, J.; VAN DORLAND, H.A.; BRUCKMAIER, R.M.; SCHWARZ, F.
10 Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately
11 induced negative energy balance with subsequent realimentation. **Journal of Dairy**
12 **Science**, v. 94, p. 3510-3526, 2011.
13
- 14 GUERREIRO, B.M.; BATISTA, E.O.S.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F.;
15 RODRIGUES, C.A.; CASTRO NETTO, A.; SILVEIRA, C.R.A.; BAYEUX, B.M.;
16 DIAS, E.A.R.; MONTEIRO, F.M.; ACCORSI, M.; LOPES, R.N.V.R.; BARUSELLI,
17 P.S. Plasma antimullerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production
18 from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. **Domestic Animal Endocrinology**, v.49, p.
19 96-104, 2014.
20
- 21 GUTIERREZ, C. G.; GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A., WEBB, R. Selection on the
22 predicted breeding value for milk production delays ovulation independently of changes
23 in follicular development, milk production and body weight. **Animal Reproduction**
24 **Science**, v.95, p.193–205, 2006.
25
- 26 GUILBAULT, L.A.; DUFOURT, J.J.; THATCHER, W.W.; DROST, M., HAIBEL,
27 G.K. Ovarian follicular development during early pregnancy in cattle. **Journal of**
28 **Reproduction and Fertility**, v.73, p.127-135, 1986.
29
- 30 HAFEZ B.; HAFEZ E.S.E. **Reprodução Animal**. 7^a ed. Manole, São Paulo. 513p,
31 2004.
32
- 33 HILLIER, S.G. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and
34 luteinizing hormone in folliculogenesis. **Human Reproduction Update**, v.9, p.188-
35 191, 1994.
36
- 37 HIRSHFIELD, A.N. Heterogeneity of Cell Populations That Contribute to the
38 Formation of Primordial Follicles in Rats. **Biology of Reproduction**, v. 47, p.466-472,
39 1992.
40
- 41 HULSHOF, S.C.J.; FIGUEIREDO, J.R.; BECKERS, J.F.; BEVERS, M.M.; VAN DEN
42 HURK, R. Isolation and characterization of preantral follicles from foetal bovine
43 ovaries. **Veterinary Quarterly**, v.16, p.78-80, 1994.
44
- 45 IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Pecuária Municipal de
46 2017. Disponível em:< [https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuário/censo-](https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuário/censo-agropecuário-2017)
47 [agropecuário-2017](https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuário/censo-agropecuário-2017)>. Acesso em: 18/10/2018.
48
- 49 IRELAND, J.J. Control of Follicular Growth and Development. **Journal of**
50 **Reproduction and Fertility**, v.34, p.39-54, 1987.

1
2 IRELAND, J.J.; WARD, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.;
3 LONERGAN, P.; EVANS, A.C. Follicle numbers are highly repeatable within
4 individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the
5 proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human**
6 **Reproduction**, v.22, p.1687-1695, 2007.

7
8 IRELAND, J.L.H.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMME, A.P.N.;
9 WARD, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; PEREZ, G.I.; EVANS, A.C.O.;
10 IRELAND, J.J. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically
11 healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of Reproduction**,
12 v.79, p.1219-1225, 2008.

13
14 IRELAND, J.J.; ZIELAK, A.E.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.;
15 BETTEGOWDA, A.; SCHEETZ, D.; WALSH, S.; MOSSA, F.; KNIGHT, P.G.;
16 SMITH, G.W.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O. Variation in the ovarian reserve is
17 linked to alterations in intrafollicular oestradiol production and ovarian biomarkers of
18 follicular differentiation and oocyte quality in cattle. **Biology of Reproduction**, v.80,
19 p.954-964, 2009.

20
21 IRELAND, J.J.; SMITH, G.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.;
22 FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.H.; MOSSA, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.
23 Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the
24 ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a
25 diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle.
26 **Reproduction, Fertility and Development**, v.23, p.1-14, 2011.

27
28 JIMENEZ-KRASSEL, J.J.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.;
29 LONERGAN, P.; EVANS, A.C. Follicle numbers are highly repeatable within
30 individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the
31 proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human**
32 **Reproduction**, v.22, n.6, p.1687-1695, 2007.

33
34 JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.; HOU, X.;
35 DAVIS, J.S.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Evidence that high
36 variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the
37 corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. **Biology of**
38 **Reproduction**, v.80, p.1272-1281, 2009.

39
40 JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, D.; NEUDER, L.; IRELAND, J.; PURRSLEY,
41 J.; SMITH, G.; TEMPELMAN, R.; FERRIS, T.; ROUDEBUSH, W.; MOSSA, F.
42 Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with
43 productive herd life. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.3036-3045, 2015.

44
45 JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, D.M.; NEUDER, L.M.; PURSLEY, J.R.;
46 IRELAND, J.J. A single ultrasound determination of ≥ 25 follicles ≥ 3 mm in diameter
47 in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. **Journal of Dairy**
48 **Science**, v. 100, p. 5019-5027, 2017.

49

- 1 KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Relationship between ultrasonic
2 assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers.
3 **Theriogenology**, v.33, p.1269-1278, 1990.
4
- 5 LAMB, G.C.; DAHLEN, C.R.; LARSON, J.R.; MARQUEZINI, G.; STEVENSON,
6 J.S. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial
7 insemination in beef cattle: A review. **Journal of Animal Science**, v. 88, p.181-192,
8 2010.
9
- 10 LEROY, J.L.M.R.; VANHOLDER, T.; MATEUSEN, B.; CHRISTOPHE, A.;
11 OPSOMER, G.; DE KRUIF, A.; GENICOT, G.; VAN SOOM, A. Non-esterified fatty
12 acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of
13 bovine oocytes *in vitro*. **Reproduction**, v.130, p. 485-495, 2005.
14
- 15 MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.
16 Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes.
17 **Circular Técnica, Embrapa Pecuária Sudeste**, n. 57, 2008.
18
- 19 MAGALHÃES, D.M.; FERNANDES, D.D.; ARAUJO, V.R.; ALMEIDA, A.P.;
20 MATOS, M.H.T.; FIGUEIREDO, J.R. Papel do hormônio foliculo estimulante na
21 foliculogênese *in vivo* e *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n4.,
22 p.171-182, 2009.
23
- 24 MAGALHÃES D.M.; SALES, E.T.; PADILHA, R.T.; SILVA, T.F.P.; TONIOLI, R.;
25 FIGUEIREDO, J.R. Hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante
26 à insulina-I (IGF-I): importantes reguladores das foliculogêneses *in vivo* e *in vitro*.
27 **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.36, p. 32-38, 2012.
- 28 MARTINEZ, M.F.; SANDERSON, N.; QUIRKE, L.; LAWRENCE, S.; BRYANT, A.;
29 SARA, E.; JUENGEL, J. Antral follicular count (AFC) and fertility in new Zealand
30 dairy cows. **SSR 46th Annual Meeting**, p.23. 2013 (Abstracts).
31
- 32 MARTINEZ, M.F.; SANDERSON, N.; QUIRKE, L.D.; LAWRENCE, S.B.;
33 JUENGEL, J.J. Association between antral follicle count and reproductive measures in
34 New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system.
35 **Theriogenology**, v. 85, p. 466-475, 2016.
36
- 37 MARTINS, C.M.; CASTRICINI, E.S.C.; REIS, E.L.; TORRES-JÚNIOR, R.J.R.S.;
38 GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; BARUSELLI, P.S. Produção embrionária de vacas
39 Holandesas a diferentes protocolos de superovulação com inseminação artificial em
40 tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.227, 2005 (Resumo).
- 41 MARTINS, J.R.; TAKADA, A.; ABRAHÃO, R.G.; FREITAS, C.P.; CALEGARI, R.S.
42 Aspiração folicular de oócitos de bezerras através de videoendoscopia: um
43 procedimento promissor para maximizar a produção de embriões bovinos *in vitro*. **Acta**
44 **Scientiae Veterinariae**, v. 35, p1194, 2007 (Resumo).
45
- 46 McNATTY, K.P.; SMITH, D.M.; MAKRIS, A. et al. The microenvironment of the
47 human antral follicle: interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the
48 population of granulosa cells, and the status of the oocyte *in vivo* and *in vitro*.

- 1 **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.49, n.6, p.851-860, 1979.
2
- 3 MENDONÇA, H. G. R.; SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS
4 T. R. R.; BLASCHI, W.; MOROTTI, F.; MORAES, F. L. Z.; SENEDA, M. M.
5 Pregnancy rates following FTAI of Nelore heifers (*Bos indicus*) with high, intermediate
6 and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 452, 2013
7 (Resumo).
8
- 9 MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 4.ed. Porto
10 Alegre Sulina, 652p, 1977.
11
- 12 MIZUTA, K. Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores
13 plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas
14 bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos*
15 *taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). São Paulo, 2003. 98p. Tese (Doutorado) –
16 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2003.
17
- 18 MOROTTI, F.; BARREIROS, T.R.R.; MACHADO, F.Z.; GONZÁLEZ, S.M.;
19 MARINHO, L.S.R.; SENEDA, M.M. Is the number of antral follicles an interesting
20 selection criterium for fertility in cattle? **Animal Reproduction**, v. 12, p. 479-486,
21 2015.
22
- 23 MOROTTI, F.; SANTOS, G.M.G.; KOETZ JÚNIOR, C.K.; SILVA-SANTOS, K.C.;
24 ROSO, V.M.; SENEDA, M.M. Correlation between phenotype, genotype and antral
25 follicle population in beef heifers. **Theriogenology**, v. 91, p. 21-26, 2017.
26
- 27 MOROTTI, F.; MORETTI, R.; SANTOS, G.M.G.; SILVA-SANTOS, K.C.;
28 CERQUEIRA, P.H.R.; SENA, M.M. Ovarian follicular dynamics and conception rate in
29 *Bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial
30 insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 188, p. 170-177, 2018.
31
- 32 MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.;
33 LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Evidence that high variation in antral
34 follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen
35 production in cattle. **Reproduction**, v.140, p. 713-720, 2010a.
36
- 37 MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; WALSH, S.; BERRY, D.P.; BUTLER, S.T.;
38 FOLGER, J.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.L.; LONERGAN, P.; IRELAND, J.J.;
39 EVANS, A.C. Inherent capacity of the pituitary gland to produce gonadotropins is not
40 influenced by the number of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter in cattle.
41 **Reproduction, Fertility and Development**, v.22, p. 550-557, 2010b.
42
- 43 MOSSA, F.; WALSH, S.W.; BUTLER, S.T.; BERRY, D.P.; CARTER, F.; LONERGAN,
44 P.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J.; EVANS, A.C. Low numbers of ovarian follicles \geq
45 3mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Jornal of Dairy**
46 **Science**, v. 95, p.2355-2361, 2012.
47
- 48 MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, D.M.; WEBER-NIELSEN, M.;
49 EVANS, A.C.O.; IRELAND, J.J. Anti-Müllerian (AHM) and fertility managenet in
50 agricultural species. **Reproduction**. 154:R1-R11, 2017.

- 1
2 MURDOCH, W.J. Ovarian surface epithelium, ovulation and carcinogenesis. **Biology**
3 **Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v.71, p.529-543, 1996.
4
- 5 NAGAI, K.; YANAGAWA, Y.; KATAGIRI, S.; NAGANO, M. The relationship
6 between antral follicle count in a bovine ovary and developmental competence of in
7 vitro-grown oocytes derived from early antral follicles. **Biomedical Research**, v. 37, n.
8 1, p. 63-71, 2016.
- 9 NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, B.J.P.; TEIXEIRA, A.B.; TRINCA, L.A.;
10 D'OCCHIO, M.J.; BARROS, C.M. Embryo recovery and pregnancy rates after the
11 delay of ovulation and fixed-time insemination in superstimulated beef cows.
12 **Theriogenology**, v.57, p.1625–1664, 2005.
13
- 14 NOGUEIRA, G.P. Puberdade e Maturidade sexual de Novilhas Bos indicus. I: 2°
15 Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, v.1, 2006, Londrina.
16 **Anais...**Londrina: SIRAA, 2006, p. 180–190.
17
- 18 OLIVEIRA, M. Kissppetina: efeito na maturação *in vitro* de oócitos bovinos.
19 Uberlândia, 2016. 52p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia,
20 2016.
21
- 22 PFEIFER, L.M.F.; LEAL, S.C.B.S.; SCHENEIDER, A.; SCHMITT, E.; CORRÊA,
23 M.N. Effect of the ovulatory follicle diameter and progesterone concentration on
24 the pregnancy rate of fixed-time inseminated lactating beef cows. **Revista Brasileira de**
25 **Zootecnia**, v.41, n.4, p.1004-1008, 2012.
26
- 27 PONCHEKI, J.K.; CANHA, M.L.S.; VIECHNIESKI, S.L.; ALMEIDA, R. Analysis of
28 daily body weight of dairy cows in early lactation and associations with productive and
29 reproductive performance . **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 5, p. 187-192,
30 2015.
31
- 32 PONTES, J. H. F.; SILVA, K. C. F.; BASSO, A. C.; RIGO, A. G.; FERREIRA, C. R.;
33 SANTOS, G. M. G.; SANCHES B. V.; PORCIONATO, J. P. F.; VIEIRA, P. H. S.;
34 FAIFER, F. S.; STERZA, F. A. M.; SCHENK, J. L.; SENEDA, M. M. Large-scale in
35 vitro embryo production and pregnancy rates from Bos taurus, Bos indicus, and
36 indicustaurus dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v.74, p.1349–1355,
37 2010.
38
- 39 PHOLER , K.G.; GEARY, T.W.; ATKINS, J.A.; PERRY, G.A.; JINKS, E.M.; SMITH,
40 M.F. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell and**
41 **Tissue Research**. v. 349, p.649-664, 2012.
42
- 43 RANDEL, R.D. LH and ovulation in Brahman x Hereford and Hereford heifers.
44 **Journal of Animal Science**, v. 43, p.300, 1976.
45
- 46 RHODES, F.M.; DE'ATH, G.; ENTWISTLE, K.W. Animal and temporal effects on
47 ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 38,
48 p.265-277, 1995.
49

- 1 ROCHE, J.F. Control and regulation of folliculogenesis – **A symposium in perspective.**
2 **Reviews of Reproduction**, v. 1, p. 19-27, 1996.
3
- 4 ROCHE, J.R. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive
5 efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 96, p. 282-296, 2006.
6
- 7 RODRIGUES, H.D.; KINDER, J.E.; FITZPATRICK, L.A. Estradiol regulation of
8 luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at
9 different ages. **Biology of Reproduction**, v.66, p.603-609, 2002.
10
- 11 RODRIGUES, A. S.; OLIVEIRA, S. N.; LOIOLA, M. V. G.; FERRAZ, P. A.;
12 CHALHOUB, M.; BITTENCOURT, R. F.; DE LISBOA RIBEIRO FILHO, A.
13 Contagem de foliculos antrais em fêmeas Nelore submetidas a inseminação artificial em
14 tempo fixo. **Ciência Rural**, v. 45, p. 711-717, 2015.
15
- 16 ROY, S.K.; TREACY, B.J. Isolation and long-term culture of human preantral follicles.
17 **Fertility and Sterility**, v.59, p.783-790, 1993.
18
- 19 RUBIN, K. C. P.; PONTES, J. H. F.; NONATO JR, I.; ERENO JR, J. C.; PANSARD,
20 H.; SENEDA, M. M. Influence of Nelore blood on the in vivo production of
21 oocytes. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 183, 2005.
22
- 23 SÁNCHEZ, F.; SMITZ, J. Molecular control of oogenesis. **Biochimica et Biophysica**
24 **Acta**, v. 1822, p. 1896-1912, 2012.
25
- 26 SANTOS, J.E.P.; CERRI, R.L.A.; SARTORI, R. Nutritional management of the donor
27 cow. **Theriogenology**, v. 69, p. 88-97, 2008.
28
- 29 SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk factors for resumption
30 of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal**
31 **Reproduction. Science**. v.110, p. 207-221, 2009.
32
- 33 SANTOS, G.M.G.; SILVA-SANTOS, K.C.; BARREIROS, T.R.R.; BLASCHI, W.;
34 MOROTTI, F.; SILVA, C.B.; MORAES, F.L.Z.; GIUDICISSI, D.P.L.; SENEDA, M.M.
35 Conception rates following FTAI of Nelore cows (*Bos indicus*) with high, intermediate
36 and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v.10, p. 451, 2013 (abstrat).
37
- 38 SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; MOROTTI, F.;
39 SANCHES, B. V.; MORAES, F. L. Z.; BLASCHI, W.; SENEDA, M. M. High numbers
40 of antral follicles influence the in vitro embryo production, but not the conception rate
41 of fixed-time artificial insemination in nelore cattle. **Reproduction, Fertility and**
42 **Development**, v. 27, p. 206, 2014.
43
- 44 SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; MOROTTI, F.;
45 SANCHES, B. V.; MORAES, F. L. Z.; BLASCHI, W.; SENEDA, M. M. High numbers
46 of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the
47 conception rate for FTAI in Nelore cattle. **Animal reproduction science**, v. 165, p. 17-
48 21, 2016.
49

- 1 SARTORI, R.; PONTES, G.C.S.; MONTEIRO, P.L.J.; NASCIMENTO, A.B.; MELO,
2 L.F.; WILTBANK, M.C. 105 retained fetal membranes: incidence and effect on milk
3 production and reproductive performance in dairy cows. **Reproduction, Fertility and**
4 **Development**, v.26, p. 166-167, 2014.
- 5
6 SAUMANDE, J. Ovogenèse et folliculogenèse. **Recueil de Médecine Vétérinaire**,
7 v.157, p.29-38, 1981.
- 8
9 SAUMANDE, J. La folliculogenèse chez les ruminants. **Recueil Veterinaire de**
10 **Medicina**, v.167, p. p.205-218, 1991.
- 11 SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of
12 dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and**
13 **Fertility**, v.83, p.663-671, 1988.
- 14
15 SEGERSON, E.C.; HANSEN, T.R.; LIBBY, D.W.; RANDEL, R.D.; GETZ, W.R.
16 Ovarian and uterine morphology and function in angus and Brahman cows. **Journal of**
17 **Animal Science**, v.59, p.1026-1046, 1984.
- 18
19 SENEDA, M.M.; GODMANN, M.; MURPHY, B.D.; KIMMINS, S.; BORDIGNON, V.
20 Developmental regulation of histone H3 methylation at lysine 1 in the porcine ovary.
21 **Reproduction**, v.135, p.829-838, 2008.
- 22
23 SENEDA, M.M.; SILOTO, L.S.; MOROTTI, F.; SCHENEIDER, C.L. Fisiologia do
24 crescimento folicular em bovinos. In: 4º Simpósio Internacional de reprodução animal
25 aplicada, v.4, 2010, Londrina. **Anais...Londrina: SIRAA**, 2010, p.14-22.
- 26
27 SENGER, P.L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2ª ed., Washington: Editora
28 Current Conceptions, 2003. 287p.
- 29
30 SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; SILOTO, L.S.; HERTEL, M.F.;
31 ANDRADE, E.R.; RUBIN, M.I.B.; STURION, L.; STERZA, F.A.M.; SENEDA, M.M.
32 Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos Taurus indicus* and
33 *Bos taurus taurus* females. **Theriogenology**, v.76, p.1051-1057, 2011.
- 34
35 SILVA-SANTOS, K.C.; MARINHO, L.S.R.; SANTOS, G.M.G.; MACHADO, F.Z.;
36 GONZALES, S.M.; LISBOA, L.A.; SENEDA, M.M. Ovarian follicle reserve: emerging
37 concepts and applications. **Animal Reproduction**, v.10, n.3, p.180-186, 2013.
- 38
39 SILVA-SANTOS, K.C.; SILOTO, L.S.; SANTOS, G.M.C.; MOROTTI, F.;
40 MARCANTONIO, T.N.; SENEDA, M.M. Comparison of antral and pre-antral ovarian
41 follicle populations between *Bos indicus* and *Bos indicus-taurus* cows with high or low
42 antral follicles counts. **Reproduction Domestic Animals**, v. 49, p. 48-51, 2014a.
- 43
44 SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; KOETZ JÚNIOR, C.; MOROTTI, F.;
45 SILOTO, L.S.; MARCANTONIO, T.N.; URBANO, M.R.; OLIVEIRA, R.L.; LIMA,
46 D.C.M.; SENEDA, M.M. Antral follicle populations and embryo production - in vitro
47 and in vivo - of *Bos indicus-taurus* donors from weaning to yearling ages.
48 **Reproduction Domestic Animals**, v. 49, p.228-232, 2014b.
- 49

- 1 SINCH, J.; DOMINUEZ, M.; JAISWAL, R.; ADAMS, G.P. A simple ultrasound test to
2 predict the super stimulatory response in cattle. **Theriogenology**, v.62, p. 227-243,
3 2004.
- 4
- 5 SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycles in
6 heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v.39, p.308-
7 317, 1988.
- 8
- 9 SMITH, P.W.S-O.; BRAW-TAL, R.; CORRIGAN, K.; HUDSON N.L.; HEATH, D.A.;
10 McNATTY, K.P. Ontogeny of ovarian follicle development in Booroola sheep fetuses
11 that are homozygous carriers or non-carriers of the FecB gene. **Journal of**
12 **Reproduction and Fertility**, v.98, p.41-54, 1994.
- 13
- 14 SOTO-SUATO, M.; ZORN, T.M. Primordial germ cells migration: morphological and
15 molecular aspects. **Animal Reproduction**, v.3, p.147-160, 2005.
- 16
- 17 SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J.
18 Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers.
19 **Journal of Reproduction and Fertility**, v.101, p.547-555, 1994.
- 20
- 21 TANAKA, Y.; NAKADA, K.; MORIYOSHI, M.; SAWAMUKAI, Y. Appearance and
22 number of follicles and change in the concentration of serum FSH in female bovine
23 fetuses. **Reproduction**, v.121, p.777-782, 2001.
- 24
- 25 TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VAN DE VELDE, A.; JU, J.; SCHREIBER, D.; TRIPP,
26 M.W.; LEVINE, H.; ECHELARD, Y.; RIESEN, J.; YANG, X. Developmental
27 Competence of Juvenile Calf Oocytes In Vitro and In Vivo: Influence of Donor Animal
28 Variation and Repeated Gonadotropin Stimulation. **Biology of Reproduction**, v.62, p.
29 206-213, 2000.
- 30
- 31 THIBIER, M. Stabilization of numbers of *in vivo* collected embryos in some parts of the
32 world: a report from the IETS data retrieval committee. **International Embryo**
33 **Transfer Society newsletter**, p.12-19, 2004.
- 34
- 35 VAN DEN HURK, R.; ABIR, R.; TELFER, E.E.; BEVERS, M.M. Primate and bovine
36 immature oocytes and follicles as sources of fertilizable oocytes. **Human**
37 **Reproduction Update**, v.6, p.457-474, 2000.
- 38
- 39 VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth,
40 differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p. 1717-
41 1751, 2005.
- 42
- 43 VAN WEZEL, I.L.; ROGERS, R.J. Morphological characterization of bovine
44 primordial follicles and their environment in vivo. **Biology of Reproduction**, v.55,
45 p.1003-1011, 1996.
- 46
- 47 VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular
48 dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p.2501-2509, 2000.

- 1 WATANABE, M.R., WATANABE, Y.F., FRANCESCHINI, P.H., DAYAN, A., LOBO,
2 R.B. Variation in ultrasound guided oocyte recovery in Nellores cows per session and *in*
3 *vitro* embryo production. **Theriogenology**, v.51, p.438, 1999.
4
- 5 VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular
6 dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 2501-2509, 2000.
7
- 8 WALSH, S.W.; MOSSA, F.; BUTLER, S.T.; BERRY, D.P.; SCHEETZ, D.;
9 JIMENEZ-KRASSEL, F.; TEMPELMAN, R.J.; CARTER, F.; LONERGAN, P.;
10 EVANS, A.C.O.; IRELAND, J.J. Heritability and impact of environmental effects
11 during pregnancy on antral follicle count in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.97,
12 p.4503-4511, 2014.
13
- 14 WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; GONG, J.G.; ARMSTRONG, D.G. Controlo f
15 follicular growth: Local interactions and nutricional influences. **Journal of Animal**
16 **Science**, v.82, p.63-74, 2004.
17
- 18 WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A.
19 Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid
20 metabolism. **Theriogenology**, v. 65, p. 17-29, 2006.
21
- 22 WOLFENSON, D.; INBARA, G.; ROTH, Z.; KAUMB, M.; BLOCHA, A.; BRAW-
23 TAL, R. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in
24 lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**, v.62, p.1042-1055, 2004.
25
- 26 YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W.R. **Current Therapy in Large Animal**. 2. ed.
27 St. Louis: Saunders, Elsevier, 1088p, 2007.
28
- 29
- 30
- 31
- 32
- 33
- 34
- 35
- 36
- 37
- 38

3 OBJETIVOS:

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a relação da contagem dos folículos antrais sobre parâmetros produtivos e reprodutivos em vacas leiteiras de alta produção (*Bos taurus taurus*);

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Quantificar o número de folículos antrais ≥ 2 mm de diâmetro em vacas lactantes da raça Holandesa;
- Classificar grupos de baixa, intermediária e alta CFA;
- Correlacionar o número de folículos antrais recrutados com a taxa de concepção aos 30 e 60 dias de gestação;
- Avaliar a relação da CFA sobre as características produtivas (escore de condição corporal e o peso corporal);
- Relacionar a CFA com características reprodutivas (diâmetros do folículo ovulatório, dos cornos uterinos, dos ovários e do corpo do lúteo);
- Quantificar o número dos folículos antrais (≥ 2 mm) no mesmo indivíduo e no momento da inseminação e durante os 30 e 60 dias de gestação;

4 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E REPRODUTIVAS DE VACAS
HOLANDESAS DE ALTA PRODUÇÃO COM DIFERENTES CONTAGENS DE
FOLÍCULOS ANTRAIS****PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF HIGH
PRODUCTION HOLSTEIN COWS WITH DIFFERENT ANTRAL FOLLICLES
COUNTS****RESUMO**

Dois estudos foram realizados com o objetivo de: I) Analisar as diferenças na taxa de concepção, nas características ovarianas e aspectos produtivos de vacas submetidas à inseminação artificial (IA; sêmen de um único touro) com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais (CFA) e II) Comparar a CFA em três momentos distintos (IA, 30 e 60 dias de gestação) para investigar se a CFA alterava-se ao longo desse período de monitoramento. Foi utilizado um ultrassom, para avaliar a CFA e as variáveis do aparelho reprodutivo de vacas Holandesas lactantes confinadas. No estudo I foram selecionados 100 animais, com escore de condição corporal (ECC) de 2,5 a 4,5 (escala 1 a 5) e idade de 24 a 108 meses. No dia do estro, avaliou-se: a CFA ≥ 2 mm de diâmetro, o ECC, peso corporal (PC), os diâmetros do folículo dominante (FD), dos cornos uterinos, dos ovários e do corpo lúteo dos animais. Aos 30 e 60 dias após a IA, o diagnóstico de gestação foi realizado. Considerando a CFA das vacas incluídas no estudo I os tercís T1, T2 e T3 foram estabelecidos e as fêmeas divididas em G-baixo (≤ 19 folículos), G-intermediário (≥ 20 e ≤ 29 folículos) e G-alta (≥ 30 folículos). As análises foram realizadas pelo modelo linear generalizado, inserindo a CFA como efeito fixo e as demais fontes de variação como covariáveis. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A taxa de concepção foi analisada por Regressão Logística Binária ($p < 0,05$). Comparando alta CFA vs intermediária, o G-alta apresentou ($p < 0,05$) menor diâmetro do FD ($16,0 \pm 2,6$ vs $17,9 \pm 2,6$), maior ECC ($3,6 \pm 0,5$ vs. $3,5 \pm 0,6$) e superiores taxas de concepção aos 30 (55,2% vs 29,3%) e 60 dias de gestação (48,3% vs 24,4%), respectivamente. Houve diferença ($p = 0,01$) no PC entre o G-alta ($645,1 \pm 62,9$) e o G-baixa ($589,1 \pm 89,7$). No Estudo II, foram utilizadas

1 54 vacas gestantes, avaliadas quanto a CFA, o ECC e o PC dos animais em três
2 momentos (IA, 30 e 60 dias gestação). Na análise estatística, as variáveis (CFA, ECC e
3 PC) foram analisadas por medidas repetidas empregando o modelo linear generalizado,
4 tendo o efeito do tempo como efeito fixo e as demais fontes como covariáveis. As
5 médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Foi constatado que a CFA
6 aumenta ($p = 0,0001$) do momento da IA ($55,1 \pm 3,1$; vacas não gestantes) em relação
7 aos 30 ($82,6 \pm 4,2$) e 60 dias ($115,2 \pm 5,1$) de gestação. Houve aumento ($p = 0,01$) no
8 ECC entre o dia da IA ($3,4 \pm 0,1$) e aos 60 dias de gestação ($3,7 \pm 0,1$). Portanto, a CFA
9 pode estar relacionada com as características produtivas, reprodutivas, bem como a taxa
10 de concepção de vacas de leite de alta produção, porém o melhor desempenho
11 reprodutivo de vacas de alta CFA ainda precisa ser estabelecido. A CFA é maior na vaca
12 gestante em relação ao momento da inseminação artificial.

13

14 Palavras-chave: Ultrassonografia, prenhez, folículos antrais, peso, *Bos taurus taurus*.

15

16

17

ABSTRACT

18

19 Two studies were carried out with the objective of: I) To analyze the differences in
20 conception rate, ovarian characteristics and productive aspects of cows submitted to
21 artificial insemination (AI, single bull semen) with low, intermediate and high antral
22 follicle counts (AFC), and II) to compare AFC at three different times (AI, 30 and 60
23 days gestation) to investigate whether AFC was altered during this monitoring period.
24 Ultrasound was used to evaluate the AFC and the variables of the reproductive tract of
25 confined lactating Holstein cows. In the study I were selected 100 animals, with body
26 condition score (BCS) of 2.5 to 4.5 (scale 1 to 5) and age of 24 to 108 months. On the
27 day of estrus, we evaluated: $AFC \geq 2$ mm in diameter, BCS, body weight (BW),
28 diameters of the dominant follicle (DF), uterine horns, ovaries and corpus luteum of
29 animals. At 30 and 60 days after AI, the diagnosis of gestation was performed.
30 Considering the AFC of the cows included in study I the T1, T2 and T3 tertiles were
31 established and the females divided into G-low (≤ 19 follicles), G-intermediate (≥ 20
32 and ≤ 29 follicles) and G-high (≥ 30 follicles). The analyzes were performed by the
33 generalized linear model, inserting the AFC as fixed effect and the other sources of

1 variation as covariables. The averages were compared by the Tukey's test ($p < 0.05$).
2 The conception rate was analyzed by Binary Logistic Regression ($p < 0.05$). Comparing
3 high AFC vs intermediate, G-high presented ($p < 0.05$) lower DF diameter (16.0 ± 2.6
4 vs 17.9 ± 2.6), higher BCS (3.6 ± 0.5 vs. 3.5 ± 0.6) and higher conception rates at 30
5 (55.2% vs 29.3%) and 60 days of gestation (48.3% vs 24.4%), respectively. There was a
6 difference ($p = 0.01$) in BW between G-high (645.1 ± 62.9) and G-low (589.1 ± 89.7).
7 In Study II, 54 pregnant cows were evaluated, evaluated for AFC, BCS and BW of the
8 animals at three moments (AI, 30 and 60 days gestation). In the statistical analysis, the
9 variables (AFC, BCS and BW) were analyzed by repeated measurements using the
10 generalized linear model, with the effect of time as a fixed effect and the other sources
11 as covariables. The averages were compared by the Tukey's test ($p < 0.05$). It was found
12 that the AFC increased ($p = 0.0001$) from AI (55.1 ± 3.1 ; non-pregnant cows) in relation
13 to 30 (82.6 ± 4.2) and 60 days (115.2 ± 5.1) of gestation. There was an increase ($p =$
14 0.01) in BCS between AI day (3.4 ± 0.1) and 60 days of gestation (3.7 ± 0.1). Therefore,
15 AFC may be related to the productive and reproductive characteristics as well as the
16 conception rate of high production cows, but the best reproductive performance of high
17 AFC cows has yet to be established. The AFC is higher in the pregnant cow compared
18 to the time of artificial insemination.

19 Keywords: Ultrasonography, pregnancy, antral follicles, weight, *Bos taurus taurus*.

20

21

22 1 INTRODUÇÃO

23

24 A incorporação de tecnologias e de inovações é importante para tornar os
25 sistemas de produção de leite e carne mais eficientes, sustentáveis e competitivos.
26 Diante deste cenário e considerando as biotecnologias da reprodução como importante
27 ferramenta de melhoramento genético dos rebanhos, muitas pesquisas foram realizadas
28 para avaliar o efeito da contagem de folículos antrais (CFA) na atividade reprodutiva
29 (Santos et al., 2016; Morotti et al., 2017; 2018).

30 Tal população folicular se refere ao número de folículos antrais ≥ 3 mm
31 recrutados por onda de crescimento folicular (Mossa et al., 2012), a qual poderia
32 influenciar uma variedade de características ligadas a fertilidade em espécies
33 monovulatórias, como por exemplos, os seres humanos (Erickson et al., 1976), os

1 bovinos (Ireland et al., 2008; Morotti et al., 2018) e os equinos (Claes et al., 2017). É
2 possível identificar fêmeas com alto, intermediário e baixo número de folículos antrais
3 durante as ondas de crescimento folicular através de um único exame de ultrassom
4 (Ireland et al., 2007; Silva-Santos et al., 2014b).

5 Trabalhos realizados na Europa e EUA sugerem efeitos positivos relacionados
6 a fêmeas taurinas (*Bos t. taurus*) com alta CFA (≥ 25 folículos) quando comparadas
7 com fêmeas de baixo número de folículos nos ovários (≤ 15 ; Burns et al., 2005; Ireland
8 et al., 2007; 2009; 2011; Jimenez-Krassel et al., 2009), como por exemplo: maior taxa
9 de prenhez na inseminação artificial (Mossa et al., 2012) e maior concentração de
10 Hormônio anti-Mülleriano (AHM; Jimenez-Krassel et al., 2015) em vacas Holandesas.
11 Ainda, foi observada uma melhor resposta e um maior número de embriões produzidos
12 *in vivo* por superovulação (SOV; Ireland et al., 2008) e maior taxa de prenhez em vacas
13 taurinas de corte (Cushman et al., 2009).

14 Em um estudo na Nova Zelândia com vacas leiteiras, os autores observaram
15 maior taxa de concepção geral nas vacas de alta CFA (≥ 30 folículos) durante o período
16 reprodutivo (Martinez et al., 2016). Adicionalmente, em vacas holandesas no Japão foi
17 observado maior número e maior fertilidade dos oócitos aspirados no grupo de vacas
18 com alta CFA (≥ 25) comparado ao grupo de baixa (< 25) em programa de produção *in*
19 *vitro* de embriões (OPU/PIV; Nagai et al., 2016).

20 Entretanto, as vacas de baixa CFA (≤ 15 folículos) foram associadas a várias
21 características de baixa fertilidade como por exemplo, ovários menores (Burns et al.,
22 2005; Ireland et al., 2011), menor espessura endometrial e reduzida concentração
23 circulante de progesterona (Jimenez-Krassel et al., 2009; Evans et al., 2012), maior
24 quantidade de marcadores de células do *cumulus* associado à baixa qualidade do oócito
25 (Ireland et al., 2009; Kussano et al., 2016) e secreção aumentada de FSH (Ireland et al.,
26 2011).

27 Por outro lado, dados controversos têm sido revelados por pesquisas recentes
28 em animais zebuínos (*Bos t. indicus*) no Brasil em relação à CFA e o desempenho
29 reprodutivo dos animais submetidos a protocolos de indução da ovulação e inseminação
30 artificial, sendo que o melhor desempenho não tem sido encontrado em fêmeas de alta
31 CFA, há relatos de que não há diferença da taxa de prenhez entre os grupo de CFA
32 (Santos et al., 2016), ou ainda, que o melhor resultado é do grupo de baixa CFA (≤ 15
33 folículos; Morotti et al., 2018). Ao contrário dos próprios estudos Norte Americanos e
34 Europeus, recentemente foi relatada uma menor vida produtiva e fertilidade para fêmeas

1 taurinas (holandesas) de alta CFA (≥ 25 folículos) comparada com grupos intermediária
2 (16 a 24 folículos) e baixa contagem (≤ 15 folículos; Jimenez-Krassel et al., 2017).

3 Neste cenário contraditório, é conhecido que o diâmetro do folículo ovulatório
4 pode influenciar na taxa de prenhez de vacas taurinas (Pfeifer et al., 2012) e zebuínas
5 (Morotti et al., 2018) submetidas a programas de IATF, porém pouco se conhece da
6 relação entre a CFA e o diâmetro do folículo pré-ovulatório em vacas de leite e ainda, se
7 há associação entre a CFA e o escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal
8 (PC) dos animais. Adicionalmente, já está bem estabelecido que a CFA é variável entre
9 os animais, mas altamente repetível durante as ondas de crescimento folicular do ciclo
10 estral (Burns et al., 2005; Ireland et al., 2011; Jimenez-Krassel et al., 2009; Morotti et
11 al., 2017). Porém, ainda é desconhecida se essa repetibilidade se mantém constantes
12 durante as ondas foliculares nos estágios iniciais da gestação.

13 Considerando os aspectos controversos da CFA e a ausência de estudos sobre a
14 influência da CFA em vacas leiteiras de alta produção submetidas à inseminação
15 artificial nas condições de manejo no Brasil, a hipótese foi que a CFA está relacionada
16 com parâmetros de fertilidade em vacas Holandesas submetidas a IA. Ainda, a CFA
17 pode variar numericamente entre as ondas de crescimento folicular nos estágios iniciais
18 do período gestacional. Portanto, os objetivos deste estudo foram: I) Avaliar a relação
19 da CFA na taxa de concepção de vacas submetidas a IA sem a administração de
20 protocolos hormonais e inseminadas com utilização de doses de sêmen de um único
21 touro; II) Averiguar se há associação entre a CFA e o diâmetro do folículo pré-
22 ovulatório, do corpo lúteo, dos ovários e dos cornos uterinos; III) Verificar se há relação
23 da CFA com ECC e o PC; IV) Avaliar a constância do número de folículos antrais em
24 fêmeas no momento da IA (estro) e nas gestações com 30 e 60 dias.

25

26 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

27

28 Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais
29 (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, baseada na Lei Federal
30 11.794 de 8 de outubro de 2008, e aprovado sob o número 7218.2017.08.

31

32 *2.1 Localização*

33

1 O estudo foi conduzido durante o período de inverno e primavera (de julho a
2 novembro de 2017), em uma única fazenda comercial produtora de leite na região sul do
3 Brasil, Castro - PR, localizado 24°46'28"S e 49°56'42"W e altitude de 998 metros. Esta
4 região possui o clima temperado com temperatura média anual de 16,9° C e
5 pluviosidade média anual de 1553 mm, classificado como Cfb (Köppen).

6 7 2.2 *Estudo I*

8 9 2.2.1 *Animais*

10
11 Foram utilizadas 100 vacas *Bos taurus taurus* (raça Holandesa), em lactação (a
12 partir de 30 dias pós-parto; produção média de 10.675 kg de leite), idade entre 24 a 108
13 meses, peso corporal dos animais variou de 435 a 749 kg , escore corporal entre 2,5 e
14 4,5, numa escala de 1 a 5, em que 1 representa muito magro e 5 obeso (Ferguson et al.,
15 1994). Os animais foram mantidos em sistema de confinamento total (Free Stall)
16 recebendo alimentação balanceada (composta de silagem de milho, pré-secado de aveia,
17 ração comercial, milho moído, caroço de algodão e núcleo mineral) fornecida três vezes
18 ao dia, de acordo com o requerimento nutricional exigido para a categoria (National
19 Research Council, 2001) e água *ad libitum*.

20 21 2.2.2 *Ultrassonografia e Contagem dos folículos antrais*

22
23 Após exame ginecológico, foram selecionadas 117 vacas, porém somente 100
24 fêmeas (hígidas) foram inclusas no estudo. A ultrassonografia transvaginal foi realizada
25 empregando ultrassom (Aquila Pro, Pie Medical, Maastricht – Holanda) equipado com
26 transdutor microconvexo de 7,5 MHz acoplado a um suporte da guia de aspiração
27 folicular.

28 As avaliações ultrassonográficas foram realizadas pelo mesmo operador
29 durante todo período de observação. As imagens dos ovários, do corpo lúteo, de ambos
30 os cornos uterinos e do folículo dominante no momento da IA, foram identificadas,
31 capturadas e mensuradas empregando recursos do próprio aparelho. Os valores de cada
32 estrutura foram obtidos pela média dos diâmetros perpendiculares em cada animal.

1 Todas as informações levantadas em cada animal foram registradas em fichas de
2 controle individual para posterior monitoramento.

3 O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial
4 (IA), sendo considerada como gestante aquela vaca em que a visualização da vesícula
5 embrionária e o embrião eram detectados ao exame. Aos 60 dias após a IA, foi realizado
6 um novo exame ultrassonográfico para confirmação da gestação através da visualização
7 do feto e observação do batimento cardíaco fetal, para avaliação de possíveis diferenças
8 nas concepções entre os dois diagnósticos.

9 No dia do estro foi realizada a contagem dos folículos antrais empregando o
10 mesmo aparelho de ultrassom e transdutor previamente descrito. Para isso, os ovários
11 direito e esquerdo foram escaneados em ambas as faces, a partir da extremidade para o
12 pedículo, com o objetivo de padronizar e determinar a contagem de todos os folículos \geq
13 2 mm com maior precisão (Burns et al., 2005; Ireland et al., 2007; 2008; Santos et al.,
14 2016; Morotti et al., 2018).

15

16 2.2.3 *Observação do cio e Inseminação artificial*

17

18 Os animais não gestantes, mas identificados com a presença de Corpo Lúteo
19 (CL) no exame ginecológico de rotina da propriedade receberam tratamento hormonal a
20 base de prostaglandina F₂ α (PGF₂ α – dinoprost trometamina 25 mg via intramuscular;
21 Lutalyze®, Zoetis, Brasil) e tiveram a base da cauda pintada com tinta à base de água
22 (Fil®, Gea Group, Nova Zelândia) para facilitar o manejo reprodutivo, a observação de
23 cio e conseqüentemente a inseminação artificial. A observação do cio foi realizada
24 diariamente por avaliação visual da presença ou não da tinta na base da cauda, pelo
25 reflexo de imobilidade (aceitação de monta) e avaliação ginecológica.

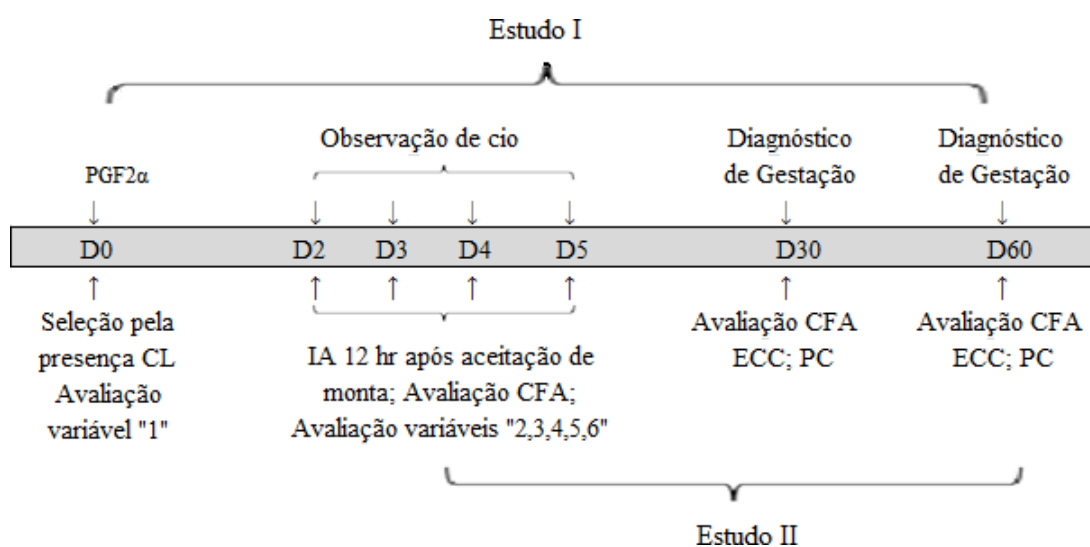
26 Logo após o diagnóstico do estro, a inseminação artificial foi realizada com
27 sêmen comercial do mesmo touro, mesmo lote e partida (Seagull-Bay D Franchise-ET,
28 CRV Lagoa, Brasil), 12 horas após o início do cio, seguindo o protocolo comercial
29 padrão estabelecido pela Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).
30 Todas as inseminações foram realizadas pelo mesmo inseminador e logo após as
31 inseminações foram realizadas as mensurações das variáveis do sistema reprodutivo
32 (diâmetro dos ovários, dos cornos uterinos e FD) das vacas.

33

34 2.2.4 *Escore de condição corporal e estimativa do peso*

O escore da condição corporal (ECC) foi realizado por meio de avaliação subjetiva, observando-se o grau de cobertura muscular e de tecido adiposo visível nas regiões do gradil costal, apófises transversa e processos espinhosos de vértebras, bem como proeminências ósseas da região sacral e pélvica, classificando cada vaca de 1 a 5, sendo 1 = extremamente magra e 5 = obesa (Ferguson et al., 1994). Para estimativa do peso corporal, foi utilizada fita métrica própria para pesagem de bovinos leiteiros através da mensuração do perímetro torácico do animal (Heinrichs et al., 1992).

Figura 1- Delineamento experimental empregado na contagem de folículos antrais em vacas de leite de alta produção.



Variáveis: 1-Diâmetro do corpo lúteo por indução; 2- Mensuração dos ovários direito e esquerdo; 3- Diâmetro dos cornos uterinos durante o estro; 4- Diâmetro do folículo ovulatório; 5- Escore de Condição Corporal; 6- Estimativa do peso com fita métrica;

2.3 Estudo II

Foram utilizadas 54 vacas Holandesas gestantes, em diferentes fases da lactação e pertencentes a mesma propriedade e mesmo manejo das fêmeas do Estudo I. Idade dos animais variando entre 24 a 52 meses, peso entre 435 a 755 kg e ECC entre 2,75 a 4,75 (1= extremamente magra, 5= obesa, Ferguson et al., 1994). Foi utilizada ultrassonografia intravaginal utilizando sonda convexa de 7,5 MHz (Aquila Pró, Pie Medical, Maastricht – Holanda) para contagem dos folículos antrais (CFA; $\geq 2\text{mm}$), no

1 dia da inseminação artificial (IA) e durante período de gestação de 30 e 60 dias. Após
2 avaliação da CFA, foram verificados o peso e o ECC nestes três momentos (IA, 30 e 60
3 dias), para posterior comparação (Figura 1). Foram seguidos os mesmos critérios para
4 avaliação da CFA e aferição do ECC e do peso dos animais utilizados no Estudo I.

6 *2.4 Análise estatística*

7
8 No estudo I, o primeiro tercil (T1 = 19), a mediana (M2 = 25) e o terceiro tercil
9 (T3 = 30) foram extraídos da população de folículos antrais das vacas incluídas no
10 estudo (N = 100). Posteriormente, para análise dos dados, os grupos experimentais
11 foram definidos como sendo de baixa (T1 \leq 19 folículos), intermediária (vacas com
12 CFA \geq 20 e \leq 29 folículos) e alta contagem (T3 \geq 30 folículos). O efeito do número de
13 folículos antrais sobre as variáveis estudadas foi analisado pelo modelo linear
14 generalizado, incluindo o efeito principal da CFA como efeito fixo e todas as demais
15 fontes de variação foram inclusas como covariáveis do modelo. Na presença de um
16 efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Diferenças na
17 taxa de concepção dos grupos (baixa, intermediária e alta) foram analisadas por
18 regressão logística binária.

19 No estudo II, os dados da CFA, do ECC e do peso foram analisadas por
20 medidas repetidas empregando o modelo linear generalizado, incluindo o efeito do
21 tempo como efeito principal e as demais fontes de variação como covariáveis. Para
22 análise descritiva, os dados quantitativos estão apresentados como média (M) e desvio
23 padrão (SD) e os dados qualitativos como porcentagem (%). Todas as análises
24 estatísticas foram realizadas no programa estatístico Minitab®, versão 18.1. O nível de
25 significância para rejeitar H0 (a hipótese nula) foi de 5%.

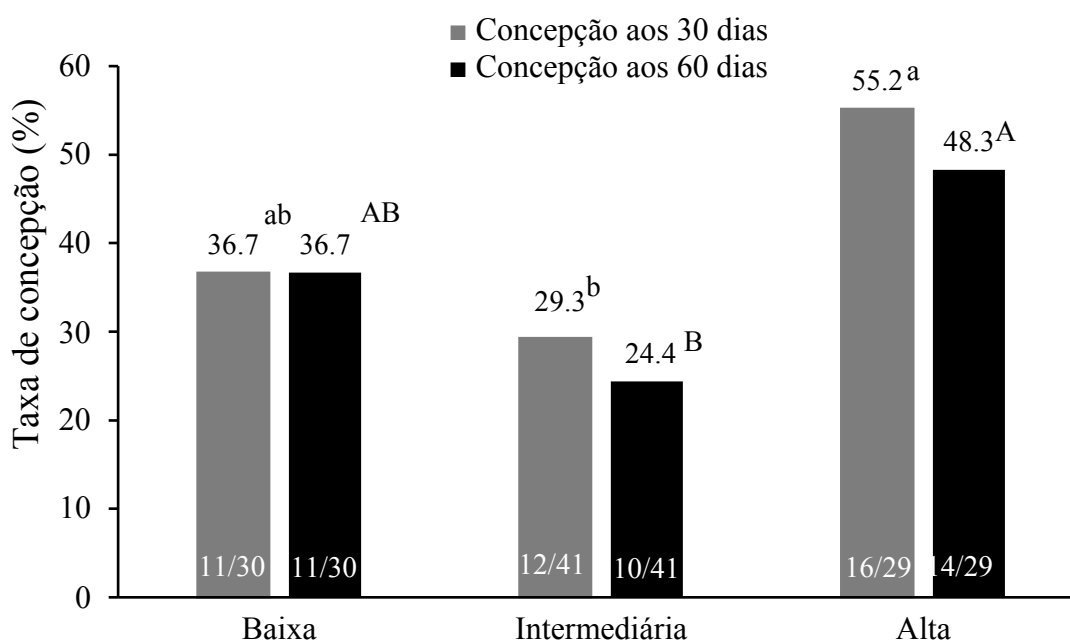
27 **3 RESULTADOS**

29 **3.1 Estudo I**

30
31 Com base na CFA realizadas no dia da inseminação e no diagnóstico de
32 gestação com 30 e 60 dias, as vacas (N = 100) foram distribuídas em grupos de baixa (\leq
33 19 folículos; N = 30), intermediária (\geq 20 e \leq 29; N = 41) e alta CFA (\geq 30 folículos; N
34 = 29). O número de folículos diferiu (p= 0,0001) entre os grupos (Tabela 1).

1 Considerando a taxa de concepção, os resultados demonstram diferença ($p <$
 2 0,05) entre os grupos de CFA, sendo que o de alta CFA apresentou maior taxa de
 3 concepção em relação ao grupo intermediário, 55,2% vs 29,3% aos 30 dias e 48,3% vs
 4 24,4%, aos 60 dias de prenhez (Figura 2). O grupo de alta apresentou numericamente
 5 maior taxa de concepção (diferença de 18,5%) em comparação ao grupo de baixa CFA
 6 (55,2% vs 36,7%, respectivamente). Ao analisar os dados, houve diferença de 16,7%
 7 (02/12) na taxa de concepção entre os 30 e 60 dias de gestação no grupo intermediário e
 8 de 12,5% (02/16) no grupo de alta (Figura 2).

10 **Figura 2.** Taxa de concepção de vacas Holandesas submetidas a IA com 30 e 60 dias de
 11 gestação, distribuídas em grupos de baixa, intermediária e alta CFA.



12
 13 ^{a-b} Letras diferentes indicam diferença estatísticas ($p < 0,05$).

14
 15 O diâmetro folicular no momento da inseminação (FD) foi maior ($p < 0,05$) nas
 16 vacas do grupo intermediário do que naquelas com alta contagem ($17,9 \pm 2,6$ vs $16,0 \pm$
 17 $2,6$ mm; Tabela 1), porém com menor taxa de concepção.

18 Os dados demonstram diferença estatística ($p < 0,05$) entre o ECC do grupo
 19 intermediário vs alta ($3,2 \pm 0,5$ vs $3,6 \pm 0,5$), respectivamente. E ainda, diferença ($p <$
 20 $0,05$) entre os pesos dos animais do grupo de baixa ($589,1 \pm 89,7$) e alta CFA ($645,1 \pm$
 21 $62,9$; Tabela 1).

22

- 1 **Tabela 1** – Características produtivas e reprodutivas de vacas Holandesas com baixa (primeiro tercil T1 \leq 19 folículos), intermediária (intervalo
2 entre T1 e T3 \geq 20 e \leq 29 folículos) e alta contagem de folículos antrais (terceiro tercil T3 \geq 30 folículos).

Variáveis	Baixa CFA (n = 30)	Intermediária (n = 41)	Alta (n = 29)	Valor de p
Idade (meses)	57,0 \pm 10,1	54,8 \pm 9,3	60,5 \pm 16,7	0,54
Partos (n)	1,8 \pm 0,7	1,7 \pm 0,5	2,0 \pm 0,9	0,436
Contagem total de folículos antrais (n)	15,5 \pm 3,2 ^c	24,3 \pm 3,1 ^b	41,1 \pm 9,5 ^a	0,0001
Dias em leite	262,1 \pm 61,9	233,5 \pm 43,5	343,0 \pm 57,7	0,422
ECC (1 a 5)	3,5 \pm 0,6 ^{ab}	3,2 \pm 0,5 ^b	3,6 \pm 0,5 ^a	0,035
Peso estimado (kg)	589,1 \pm 89,7 ^b	613,8 \pm 70,1 ^{ab}	645,1 \pm 62,9 ^a	0,013
Diâmetro do FD no momento do estro	16,9 \pm 2,8 ^{ab}	17,9 \pm 2,6 ^a	16,0 \pm 2,6 ^b	0,027
Diâmetro do CL na indução do estro (mm)	20,0 \pm 9,0	19,4 \pm 4,2	19,0 \pm 3,5	0,736
Diâmetro do ovário esquerdo (mm)	27,1 \pm 6,7	27,9 \pm 4,9	30,2 \pm 6,6	0,849
Diâmetro do ovário direito (mm)	28,4 \pm 5,6	30,2 \pm 6,1	31,9 \pm 6,6	0,414
Diâmetro do corno uterino esquerdo (mm)	19,1 \pm 2,4	19,3 \pm 3,0	18,9 \pm 3,4	0,835
Diâmetro do corno uterino direito (mm)	19,1 \pm 2,5	19,9 \pm 3,3	19,9 \pm 2,9	0,535

- 3 ^{a-c} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

4

1 3.2 Estudo II

2

3 Houve diferença estatística ($p = 0,0001$) na contagem de folículos antrais entre
 4 o dia da inseminação artificial ($55,1 \pm 3,1$) e 30 dias de gestação ($82,6 \pm 4,2$), com um
 5 aumento de 50% na contagem de folículos. Entre o momento da IA e com 60 dias de
 6 gestação ($115,2 \pm 5,1$), houve um aumento de 109%, e ainda, entre o período da prenhez
 7 de 30 ($82,6 \pm 4,2$) para 60 dias ($115,2 \pm 5,1$), aumento de 39%. Também houve
 8 diferença estatística ($p = 0,01$) no ECC entre o dia da IA e aos 60 dias de gestação. O
 9 peso não diferiu ($p > 0,05$) entre as avaliações (Tabela 2).

10

11 **Tabela 2** – Contagem de folículos antrais, peso estimado e escore de condição corporal
 12 de vacas Holandesa no momento da inseminação artificial, com 30 e 60 dias de
 13 gestação.

Momento da avaliação	CFA (n)	Peso estimado (kg)	ECC (1 a 5)
Na IA	$55,1 \pm 3,1^c$	$591,0 \pm 10,5$	$3,4 \pm 0,1^b$
30 dias de prenhez	$82,6 \pm 4,2^b$	$597,6 \pm 11,7$	$3,6 \pm 0,1^{ab}$
60 dias de prenhez	$115,2 \pm 5,1^a$	$600,0 \pm 11,5$	$3,7 \pm 0,1^a$
Valor de p	0,0001	0,853	0,01

14 ^{a-c} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

15

16 4 DISCUSSÃO

17

18 Este é o primeiro estudo avaliando a relação da CFA no desempenho reprodutivo
 19 de vacas holandesas de alta produção com observação de cio e sem estimulação
 20 hormonal (eCG), sendo que as vacas foram submetidas a IA com uso de sêmen de um
 21 único touro (mesma partida) e único técnico inseminador durante todo período de
 22 execução do trabalho. Este estudo mostrou que as vacas de alta CFA tinham maior ECC,
 23 menor diâmetro FD e maior taxa de concepção que o grupo de CFA intermediário. Além
 24 disso, o presente estudo demonstrou que a CFA aumenta do dia da IA (estro) até os 60
 25 dias de gestação, o que revela a variabilidade da CFA após o cio, além do potencial para
 26 OPU.

27

28 No estudo I foram atribuídos valores para cada categoria de CFA (alta,

1 o tercil 1 se refere à baixa CFA ($T1 \leq 19$ folículos), o tercil 3 se refere à alta CFA ($T3 \geq$
2 30 folículos) e os intervalos que contemplam a mediana ($T2 \geq 20$ e ≤ 29 folículos), o
3 grupo intermediário, diferentemente de outros trabalhos que dividiram os grupos de
4 CFA em média e desvio padrão. A vantagem da classificação utilizando o método do
5 tercil é que a distribuição do número de animais (N) fica mais homogênea entre os
6 grupos de CFA. Adicionalmente, os valores atribuídos para cada categoria de CFA estão
7 próximos aos utilizados por Martinez et al. (2016; baixa, ≤ 20 ; intermediária, 21 a 29;
8 alta ≥ 30).

9 No presente estudo, o grupo de alta CFA apresentou maior ECC ($3,6 \pm 0,5$ vs
10 $3,2 \pm 0,5$) e maior taxa de concepção aos 30 ($55,2\%$ vs $29,3\%$) e aos 60 dias ($48,3$ vs
11 $24,4$) após a inseminação quando comparado ao grupo intermediário, respectivamente.
12 Maior ECC (> 3) em vacas de alta produção foram associados a maior taxa de
13 ciclicidade e fertilidade das fêmeas (Niozas et al., 2019), contudo, baseado nos
14 resultados deste estudo, não há como determinar precisamente se a maior taxa de
15 concepção no grupo de alta CFA está relacionada ao maior ECC dos animais.
16 Adicionalmente, o grupo de alta apresentou maior PC em relação ao grupo de baixa
17 CFA ($645,1 \pm 62,9$ vs $589,1 \pm 89,7$), porém as taxas de concepção não diferiram ($p >$
18 $0,05$).

19 Comparando os grupos, as vacas de alta CFA tiveram numericamente uma
20 maior taxa de concepção ($55,2\%$), condizente com o trabalho de Martinez et al. (2016)
21 que encontraram maior taxa de prenhez na primeira inseminação ($68,1\%$ vs $45,3\%$),
22 maior taxa de prenhez seis semanas após início da estação reprodutiva ($81,9\%$ vs $67,3$
23 $\%$) e ainda, maior taxa prenhez geral ($91,3\%$ vs $79,7\%$), alta CFA (≥ 30) vs baixa (\leq
24 20 , respectivamente). Corroborando com esses dados, Mossa et al. (2012) sugeriram
25 menor intervalo entre o parto e a concepção (100 vs 114 dias) e maior taxa de
26 concepção (94% vs 84%) comparando alta (≥ 25) vs baixa CFA (≤ 15). Embora
27 estudos realizados no Brasil utilizando animais *Bos t. indicus* e *Bos t. indicus-taurus* não
28 confirmaram o mesmo desempenho de maior taxa de concepção para os animais de alta
29 CFA (Mendonça, et al., 2013; Santos, et al., 2014), demonstrando possíveis diferenças
30 na relação da CFA e o desempenho reprodutivo nos animais zebuínos e seus
31 cruzamentos comparado a taurinos.

32 Outro fato que chama atenção é o diâmetro do FD, que foi menor nos animais
33 de alta contagem vs intermediária, contrariando dados de Burns et al. (2005), que não
34 encontraram diferenças do FD entre os grupos de CFA. Resultado intrigante e similar ao

1 deste estudo foi encontrado por outros pesquisadores que trabalharam com *Bos t.*
2 *indicus*, e taurinos de corte (Morotti et al., 2018; Pfeifer et al., 2012). Nos bovinos, o
3 diâmetro do folículo ovulatório pode variar entre 12 a 22 mm (Fortune, 1994),
4 dependendo da subespécie e do emprego de tratamentos hormonais para estimular ou
5 para controlar o ciclo estral. Em vacas taurinas de corte submetidas a protocolo de
6 sincronização da ovulação (IATF), Pfeifer et al. (2012) relataram que os animais que
7 possuíam o folículo ovulatório de maior diâmetro (>19 mm) resultava em maior CL,
8 podendo levar a maior concentração circulante de P4 e conseqüentemente resultar em
9 maiores taxas de concepção, porém os melhores resultados foram encontradas em vacas
10 com diâmetros intermediários do folículo ovulatório (13-15 mm).

11 Contraditoriamente, em animais *Bos t. indicus* submetidos à IATF, foi
12 encontrado maior diâmetro folicular e a melhor taxa de concepção no grupo de baixa
13 CFA. Adicionalmente, o grupo de baixa CFA apresentou maior diâmetro do FD ($p <$
14 $0,05$) desde o quarto dia após o início do tratamento hormonal: dia 4 ($7,3 \pm 2,2$ vs. $6,2 \pm$
15 $1,4$ mm), dia 8 ($11,2 \pm 1,8$ vs. $9,5 \pm 1,8$ mm), dia 9 ($12,3 \pm 1,7$ vs. $10,6 \pm 1,7$ mm), dia
16 10 ($13,4 \pm 1,3$ vs. $12,2 \pm 1,8$ mm) e permaneceu com maior diâmetro do FD até o
17 momento da ovulação ($14,4 \pm 1,5$ vs. $13,4 \pm 2,1$ mm, respectivamente) quando
18 comparado ao grupo de alta CFA. Esse resultado foi associado pelos autores, com o
19 melhor aproveitamento do ambiente hormonal induzido pelo protocolo em relação ao
20 menor número de folículos recrutados no grupo de baixa CFA (Morotti et al., 2018).

21 No presente estudo a maior taxa de concepção foi obtida em vacas com
22 folículo ovulatório médio de $16,0 \pm 2,6$ mm. Esse dado pode sugerir um diâmetro
23 folicular ótimo (platô ideal) nas condições de manejo desta propriedade, pois o maior
24 diâmetro do folículo próximo à ovulação obtido pelo grupo intermediário resultou na
25 pior taxa de concepção. Nesse contexto, a ovulação de folículos muito grandes já foi
26 associada à baixa fertilidade (Austin et al., 1999; Fricke et al., 1997; Shaham-Albalancy
27 et al., 2000; Utt et al., 2003; Pfeifer et al., 2012). Adicionalmente, baixas concentrações
28 circulantes de P4 durante o ciclo estral das vacas juntamente a altas frequências dos
29 pulsos de LH, foram associadas à ocorrência de folículos dominantes persistentes com
30 amplos diâmetros, devido maior secreção de 17β -estradiol (Sanchez et al., 1995). Esta
31 condição endócrina afetaria a maturação nuclear do oócito podendo levar a mortes
32 embrionárias precoces (Ahmad et al., 1995).

33 Ainda em relação às características reprodutivas, não houve diferenças entre os
34 grupos de CFA em relação ao diâmetros do CL (momento da indução do estro), dos

1 cornos uterinos e do tamanho dos ovários (estro), diferentemente a,o encontrado por
2 outros autores que encontraram diferenças realizando ovariectomia e avaliações
3 ultrassonográficas em vários momentos do ciclo estral (dias; Ireland et al., 2008;
4 Jimenez-Krassel et al., 2009) ou ainda utilizaram sistema computadorizado para realizar
5 as avaliações (Martinez et al., 2016), portanto essas diferenças podem estar relacionadas
6 as diferenças de metodologia.

7 Considerando o período do parto a concepção (dias em leite), não houve
8 diferença entre os grupos. Entretanto, cabe uma análise relevante, pois numericamente o
9 grupo de alta CFA permaneceu sem conceber cerca de 81 dias a mais em relação ao
10 grupo de baixa e cerca de 110 dias a mais em relação ao grupo intermediário. Portanto,
11 considerando este contexto e as diferenças de peso e ECC, pode-se sugerir que as vacas
12 de alta CFA necessitam de uma melhor condição corporal ou nutricional para poder
13 expressar seu melhor desempenho. Se hipoteticamente os mesmos grupos de vacas
14 fossem desafiados em um período mais próximo do parto, possivelmente as vacas com
15 menores CFA, ou seja, os grupos intermediária e baixa, tivessem uma melhor
16 performance. Esta suposição é suportada no estudo de Jimenez-Krassel et al. (2017), em
17 que as vacas de baixa (≤ 15 folículos) tiveram uma maior vida produtiva e menores
18 chances de serem descartadas por problemas reprodutivos. Porém mais pesquisas devem
19 ser realizadas para uma melhor compreensão destes fatores.

20 No estudo II um achado interessante foi encontrar variação da CFA antes e
21 após a concepção. Houve um aumento ($p = 0,0001$) adicional médio de 59 folículos da
22 CFA do momento da IA (estro) para os 60 dias de gestação das vacas.

23 Tal achado representa uma alternativa interessante e estratégica para se aplicar
24 em algumas biotécnicas reprodutivas, como na *ovum pick-up*, pois o grande número de
25 folículos antrais, associado com o início gestacional, proporciona vantagens
26 quantitativas para aspiração destes folículos, visto que o efeito numérico de folículos
27 antrais foi associado a maior produção embrionária (Ireland et al., 2007; Silva-Santos et
28 al., 2014). Adicionalmente, trabalhando com OPU/PIV em vacas Holandesas, Nagai et
29 al. (2016) observaram maior capacidade de maturação e fertilização (*in vitro*) dos
30 oócitos aspirados de vacas com alta (> 25) vs baixa CFA (< 25).

31 As reais mudanças que ocorrem quando as vacas estão gestantes ainda são
32 pouco compreendidas, mas podem estar parcialmente relacionadas a alterações
33 metabólicas. Neste contexto especulativo, sabe-se que em mulheres, o metabolismo
34 materno muda substancialmente com a gravidez. No início da gestação pode ser visto

1 um estado anabólico no corpo da mãe, com deposição de gordura e aumentos na
2 sensibilidade à insulina (Zeng et al., 2017). Além disso, os altos níveis de P4 promovem
3 redução do tônus da musculatura lisa e uma diminuição da taxa de trânsito
4 gastrointestinal, o que pode resultar em vantagens para absorção de nutrientes, devido
5 ao contato com locais de absorção mais extensos e conseqüentemente, um aumento na
6 concentração plasmática de glicose no sangue (Coad e Dunstall, 2011).

7 Já em vacas, Freetly et al. (2008) relatam que há um aumento no requerimento
8 energético durante a gestação devido um aumento no metabolismo de vários órgãos e
9 tecidos maternos com o intuito de suprir a demanda nutricional requerida pelo útero
10 gravídico. Mudanças para um estado anabólico pode promover alterações no fluxo
11 sanguíneo do fígado, em metabólicos locais e circulantes (glicose e IGF-I) e em
12 concentrações hormonais (insulina e esteroides; Sartori et al., 2013).

13 Embora não tenhamos testado esta hipótese, pode-se sugerir que o aumento da
14 CFA conforme a gestação possa estar relacionada a mudanças nas taxas metabólicas,
15 uma vez que mudanças no padrão de crescimento folicular ovariano e na função luteal
16 podem estar relacionadas a alterações na síntese de lipoproteínas e colesterol, do
17 aumento das concentrações circulantes de esteroides nos ovários, da modificação na
18 secreção do hormônio do crescimento, da insulina e na síntese e acumulação de IGF1
19 nas células do ovário (Spicer et al., 1993; Webb et al., 2004; Willians; Stanko, 2000).

20 Uma outra possível explicação seria que os folículos ativados que evoluem
21 para a fase antral, onde a maioria dos folículos ativados regridem e perecem através da
22 morte celular (apoptose), a menos que a presença de níveis suficientemente altos de
23 FSH altere o seu destino e inclua-os numa nova onda de crescimento folicular (Aerts;
24 Bols, 2010). Porém pouco se conhece sobre o mecanismo responsável pela ativação dos
25 folículos com crescimento retardado. Entretanto, um melhor entendimento do
26 mecanismo envolvido na regulação do crescimento folicular é necessário e pode
27 contribuir com o incremento na eficiência reprodutiva nos animais (Aerts; Bols, 2010).

28 Um fato interessante relatado por Bayeux et al. (2017), os quais trabalharam
29 com três categorias de novilhas da raça holandesa: novilhas pré-púberes, púberes e
30 novilhas gestantes. Observaram que as novilhas gestantes foram mais eficientes na
31 produção *in vitro* de embriões que os animais não gestantes. As novilhas prenhes
32 apresentaram maior proporção de folículos médios (6-10 mm) e grandes (>10 mm), esse
33 dado reforça nossa hipótese especulativa de que o aumento na dinâmica folicular
34 (folículos grandes) possa estar relacionado as mudanças metabólicas que ocorrem nos

1 animais gestantes. Ainda segundo os autores, as novilhas gestantes apresentaram dados
2 superiores às demais categorias em vários aspectos, como: maior taxa de clivagem,
3 maiores taxas de blastocistos e maior número de embriões viáveis por sessão.

4 Adicionalmente, Takuma et al. (2010), comparando vacas gestantes (fase
5 inicial) e vacas vazias submetidas a OPU/PIV em duas estações do ano (inverno e
6 verão), observaram que os oócitos obtidos das vacas vazias sofreram influência em
7 relação a qualidade quando aspirados durante o verão (estação quente), fato não
8 observado nos oócitos das vacas gestantes. Além disso, foi relatado maior produção
9 embrionária, melhor desenvolvimento inicial e qualidade dos embriões obtidos das
10 vacas gestantes, sugerindo que esta categoria animal pode ser uma boa opção para
11 otimizar a produção de embriões.

12 Concluimos que a CFA de vacas holandesas mantidas nas condições de manejo
13 do sul do Brasil pode estar relacionada à variação do peso dos animais, ao escore de
14 condição corporal, ao diâmetro do folículo dominante no momento da inseminação,
15 bem como com a taxa de concepção. Além disso, foi constatado que a CFA aumenta
16 significativamente nas concepções com 30 e 60 dias em relação ao momento da
17 inseminação artificial.

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

1 **REFERÊNCIAS**

2

3 AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian follicular dynamics: A review with emphasis on
4 the bovine species. Part I: Folliculogenesis and pre-antral follicle development.
5 **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.171-179, 2010.

6

7 AHMAD, N.; SCHRICK, F.N.; BUTCHER, R.L.; INSKEEO, E.K. Effect of persistent
8 follicles on early embryonic losses in beef cows. **Biology Reproduction**, v.52, p. 1129-
9 1135, 1995.

10

11 AUSTIN, E.J.; MIHM, M.; RYAN, M.P.; WILLIAMS, D.H.; ROCHE, J.F. Effect of
12 duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers.
13 **Journal of Animal Science**, v.77, n.8, p.2219-2226, 1999.

14

15 BARUSELLI, P.S.; BATISTA, E.O.S.; VIEIRA, L.M.; FERREIRA, R.M.;
16 GUERREIRO, B.G.; BAYEUX, B.M.; SALES, J.N.S.; SOUZA, A.H.; GIMENENES,
17 L.U. Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos:
18 effects of different developmental & reproductive stages. **Animal Reproduction**, v.13,
19 n.3, p. 264-272, 2016.

20

21 BAYEUX, B.M. Efeito da categoria (pré púberes, púberes e prenhes) na produção in
22 vitro de embriões de novilhas da raça Holandesa. São Paulo, 2017. 53p. Dissertação
23 (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São
24 Paulo, 2017.

25

26 BURNS, D.S.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; KNIGHT, P.G.;
27 IRELAND, J.J. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence
28 for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse
29 association with serum follicles-stimulating hormone concentrations. **Biology of**
30 **Reproduction**, v.73, p.53-62, 2005.

31

32 CLAES, A.; BALL, B.A.; SCOGGIN, K.E.; ROSER, J.F.; WOODWARD, E.M.;
33 DAVOLLI, G.M.; SQUIRES, E.L.; TROEDSSON, M.H.T. The influence of age, antral
34 follicle count and diestrous ovulations on estrous cycle characteristics of mares.
35 **Theriogenology**, v. 97, p.34-40, 2017.

36

37 CUTULLIC, E. 2010.Competition between lactation and reproduction in the dairy cow.
38 PhD thesis, Caen Basse-Normandie University, France.

39

40 COAD, J.; DUNSTALL, M. **Anatomy and Physiology for Midwives**. 3^d Edition ,
41 Churchill Livingstone, 470p, 2011.

42

43 DE LOS REYES, M.; VILLAGRÁN, M.L.; CEPEDA, R.; DUCHENS, M.;
44 PARRAGUEZ, V.; URQUIETA, B. Histological characteristics and steroid
45 concentration of ovarian follicles at different stages of development in pregnant and
46 non-pregnant dairy cows. **Veterinary Research Communications**, v. 30, n.2, p.161-
47 173, 2006.

48

- 1 DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryonic and Early Foetal Losses in Cattle and Other
2 Ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p. 260-267, 2008.
- 3 ERICKSON, B.H., REYNOLDS, R.A., MURPHREE, R.L. Ovarian characteristics and
4 reproductive performance of the aged cows. **Biology of Reproduction**, v.15, p. 555-
5 560, 1976.
- 6
- 7 EVANS, A.C. Inherent capacity of the pituitary gland to produce gonadotropins is not
8 influenced by the number of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter in cattle.
9 **Reproduction, Fertility, and Development**, v.22, p.550-557, 2010.
- 10
- 11 EVANS, A.C.O.; MOSSA, F.; WALSH, S.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL,
12 F.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J. Effects of Maternal Environment
13 During Gestation on Ovarian Folliculogenesis and Consequences for Fertility in Bovine
14 Offspring. **Reproduction in Domestic Animal**, v.47 (Suppl.4), p.31-37, 2012.
- 15
- 16 FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D.T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body
17 condition score in Holstein cows. **Journal Dairy Science**, v. 77, p. 2695-2703, 1994.
- 18
- 19 FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of**
20 **Reproduction**, v.50, p.225-232, 1994.
- 21
- 22 FRICKE, P.M.; AL-HASSAN, M.J.; ROBERTS, A.J. et al. Effect of gonadotropin
23 treatment on size, number, and cell proliferation of antral follicles in cows. **Domestic**
24 **Animal Endocrinology**, v.14, n.3, p.171-180, 1997.
- 25
- 26 FREETLY, H. C.; NIENABER, J.A.; BROWN-BRANDL, T. Partitioning of energy in
27 pregnant beef cows during nutritionally induced body weight fluctuation. **Journal of**
28 **Animal Science**, v. 86, p. 370-377, 2008.
- 29
- 30 HEINRICHS, A.J.; ROGERS, G.W.; COOPER, J.B. Predicting Body Weight and
31 Withers Height in Holstein Heifers Using Body Measurements. **Journal of Dairy**
32 **Science**, v.75, p. 3576-3581, 1992.
- 33
- 34 IRELAND, J.J.; WARD, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.;
35 LONERGAN, P.; EVANS, A.C. Follicle numbers are highly repeatable within
36 individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the
37 proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human**
38 **Reproduction**, v.22, p.1687-1695, 2007.
- 39
- 40 IRELAND, J.L.H.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMME, A.P.N.;
41 WARD, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; PEREZ, G.I.; EVANS, A.C.O.;
42 IRELAND, J.J. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically
43 healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of Reproduction**,
44 v.79, p.1219-1225, 2008.
- 45
- 46 IRELAND, J.J.; SMITH, G.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.;
47 FOLGERA, J.K.; IRELAND, J.L.H.; MOSSA, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.
48 Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the
49 ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a

- 1 diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle.
2 **Reproduction, Fertility and Development**, v.23, p.1-14, 2011.
- 3
- 4 JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.; HOU, X.;
5 DAVIS, J.S.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Evidence that high
6 variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the
7 corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. **Biology of**
8 **Reproduction**, v.80, p.1272-1281, 2009.
- 9
- 10 JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, D.; NEUDER, L.; IRELAND, J.; PURRSLEY,
11 J.; SMITH, G.; TEMPELMAN, R.; FERRIS, T.; ROUDEBUSH, W.; MOSSA F.
12 Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with
13 productive herd life. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.3036-3045, 2015.
- 14
- 15 JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, D.M.; NEUDER, L.M.; PURSLEY, J.R.;
16 IRELAND, J.J. A single ultrasound determination of ≥ 25 follicles ≥ 3 mm in diameter
17 in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. **Journal of Dairy**
18 **Science**, v. 100, p. 5019-5027, 2017.
- 19
- 20 KUSSANO, N. R. LEME, L.O.; GUIMARÃES, A.L.S.; FRANCO, M.M.; DODE,
21 M.A.N. Molecular markers for oocyte competence in bovine cumulus
22 cells. **Theriogenology**, v. 85, n. 6, p. 1167-1176, 2016.
- 23
- 24 MARTINEZ, M.F.; SANDERSON, N.; QUIRKE, L.D.; LAWRENCE, S.B.;
25 JUENGEL, J.J. Association between antral follicle count and reproductive measures in
26 New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system.
27 **Theriogenology**, v. 85, p. 466-475, 2016.
- 28
- 29 McNEEL, A.K.; CUSHMAN, R.A. Influence of puberty and antral follicle count on
30 calving day in crossbred beef heifers. **Theriogenology**, v.84, p. 1061-1066, 2015.
- 31
- 32 McNEILL R.E.; DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M.; MORRIS, D.G. Associations
33 between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival
34 during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**, v.65, p. 1435-1441, 2006.
- 35
- 36 MENDONÇA, H. G. R.; SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS
37 T. R. R.; BLASCHI, W.; MOROTTI, F.; MORAES, F. L. Z.; SENEDA, M. M.
38 Pregnancy rates following FTAI of Nelore heifers (*Bos indicus*) with high, intermediate
39 and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 452, 2013.
- 40
- 41 MONNIAUX, D.; CLÉMENT, F.; DALBIÈS-TRAN, R.; ESTIENNE, A.; FABRE, S.;
42 MANSANET, C.; MONGET, P. The ovarian reserve of primordial follicles and the
43 dynamics reserve of antral growing follicles: what is the link? **Biology of**
44 **Reproduction**, v. 90, p. 1-11, 2014.
- 45
- 46 MOROTTI, F.; SANTOS, G.M.G.; KOETZ JÚNIOR, C.K.; SILVA-SANTOS, K.C.;
47 ROSO, V.M.; SENEDA, M.M. Correlation between phenotype, genotype and antral
48 follicle population in beef heifers. **Theriogenology**, v. 91, p. 21-26, 2017.
- 49
- 50 MOROTTI, F.; MORETTI, R.; SANTOS, G.M.G.; SILVA-SANTOS, K.C.;
51 CERQUEIRA, P.H.R.; SENA, M.M. Ovarian follicular dynamics and conception rate in

- 1 Bos indicus cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial
2 insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 188, p. 170-177, 2018.
- 3
- 4 MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.;
5 LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Evidence that high variation in antral
6 follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen
7 production in cattle. **Reproduction**, v.140, p. 713-720, 2010a.
- 8
- 9 MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; WALSH, S.; BERRY, D.P.; BUTLER, S.T.;
10 FOLGER, J.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.L.; LONERGAN, P.; IRELAND, J.J.;
11 EVANS, A.C. Inherent capacity of the pituitary gland to produce gonadotropins is not
12 influenced by the number of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter in cattle.
13 **Reproduction, Fertility, and Development**, v.22, p. 550-557, 2010b.
- 14
- 15 MOSSA, F.; WALSH, S.W.; BUTLER, S.T.; BERRY, D.P.; CARTER, F.; LONERGAN,
16 P.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J.; EVANS, A.C. Low numbers of ovarian follicles \geq
17 3mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Jornal of Dairy**
18 **Science**, v. 95, p.2355-2361, 2012.
- 19
- 20 NAGAI, K.; YANAGAWA, Y.; KATAGIRI, S.; NAGANO, M. The relationship
21 between antral follicle count in a bovine ovary and developmental competence of in
22 vitro-grown oocytes derived from early antral follicles. **Biomedical Research**, v. 37, n.
23 1, p. 63-71, 2016.
- 24
- 25 NIOZAS, G.; TSOUSIS, G.; STEINHÖFEL, I.; BROZOS, C.; RÖMER, A.;
26 WEIDEMANN, S.; BOLLWEIN, H.; KASKE, M. Journal of Dairy Science, v. 102, p.
27 799-810, 2019.
- 28
- 29 NRC. NUTRIENT REQUIRIMENTS OF DAIRY CATTLE. **7th ed.**
30 **Washington, DC.; Nat. Acad. Sci.**, 2001.
- 31
- 32 PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.J.; KASTELIC, J.P.; SMALL, J.A.; ADAMS, G.P.;
33 DIONELLO, N.J.; SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone
34 concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle.
35 **Theriogenology**, v. 72, p. 1237-1250, 2009.
- 36
- 37 PFEIFER, L.M.F.; LEAL, S.C.B.S.; SCHENEIDER, A.; SCHMITT, E.; CORRÊA,
38 M.N. Effect of the ovulatory follicle diameter and progesterone concentration on
39 the pregnancy rate of fixed-time inseminated lactating beef cows. **Revista Brasileira de**
40 **Zoocetnia**, v.41, n.4, p.1004-1008, 2012.
- 41
- 42 RICO, C.; DROUILHET, L.; SALVETTI, P.; DALBIÈS-TRAN, R.; JARRIER, P.;
43 TOUZÉ, J-L.; PILLET, E.; PONSART, C.; FABRE, S.; MONNIAUX, D.
44 Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select
45 Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm.
46 **Reproduction Fertility Development**, v.24, p.932-44, 2012.
- 47
- 48 SANCHEZ, T.; WEHRMAN, M.E.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S.; BERGFELD, E.G.;
49 PETERS, K.E.; MARISCAL, V.; KITTOK, R.J.; KINDER, J.E. Dosage of the synthetic

- 1 progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous
2 secretion of 17 β -estradiol in heifers. **Biology Reproduction**, v. 52, p. 464-469, 1995.
- 3
- 4 SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; MOROTTI, F.;
5 SANCHES, B. V.; MORAES, F. L. Z.; BLASCHI, W.; SENEDA, M. M. High numbers
6 of antral follicles influence the in vitro embryo production, but not the conception rate
7 of fixed-time artificial insemination in nelore cattle. **Reproduction, Fertility and**
8 **Development**, v. 27, p. 206, 2014.
- 9
- 10 SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; MOROTTI, F.;
11 SANCHES, B. V.; MORAES, F. L. Z.; BLASCHI, W.; SENEDA, M. M. High numbers
12 of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the
13 conception rate for FTAI in Nelore cattle. **Animal reproduction science**, v. 165, p. 17-
14 21, 2016.
- 15
- 16 SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M.M.; SURJUS, R.S.; MELO, L.F.; PRATA, A.B.;
17 ISHIGURO, M.; BASTOS, M.R.; NASCIMENTO, A.B. Metabolic hormones and
18 reproductive function in cattle. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 199-205, 2013.
- 19
- 20 SHAHAM-ALBALANCY, A.; ROSENBERG, M.; FOLMAN, Y. et al. Two methods
21 of inducing low plasma progesterone concentrations have different effects on dominant
22 follicles in cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.12, p.2771-2778, 2000.
- 23
- 24 SILVA-SANTOS, K.C.; SILOTO, L.S.; SANTOS, G.M.C.; MOROTTI, F.;
25 MARCANTONIO, T.N.; SENEDA, M.M. Comparison of antral and pre-antral ovarian
26 follicle populations between *Bos indicus* and *Bos indicus-taurus* cows with high or low
27 antral follicles counts. **Reproduction Domestic Animals**, v. 49, p. 48-51, 2014a.
- 28
- 29 SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; KOETZ JÚNIOR, C.; MOROTTI, F.;
30 SILOTO, L.S.; MARCANTONIO, T.N.; URBANO, M.R.; OLIVEIRA, R.L.; LIMA,
31 D.C.M.; SENEDA, M.M. Antral follicle populations and embryo production - in vitro
32 and in vivo - of *Bos indicus-taurus* donors from weaning to yearling ages.
33 **Reproduction Domestic Animals**, v. 49, p.228-232, 2014b.
- 34
- 35 SINCH, J.; DOMINUEZ, M.; JAISWAL, R.; ADAMS, G.P. A simple ultrasound test to
36 predict the super stimulatory response in cattle. **Theriogenology**, v.62, p. 227-243, 2004.
- 37
- 38 SPICER, L.; ALPIZAR, E.; ECHTERNKAMP, S. Effects of insulin, insulin-like growth
39 factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone
40 production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor I production in vitro.
41 **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 1232-1241, 1993.
- 42
- 43 TAKUMA, T.; SAKAI, S.; EZOE, D.; ICHIMARU, H.; JINNOUCHI, T.; KAEDEI, Y.;
44 NAGAI, T.; OTOI, T. Effects of Season and Reproductive Phase on the Quality,
45 Quantity and Developmental Competence of Oocytes Aspired from Japanese Black
46 Cows. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. 55-59, 2010.
- 47
- 48 UTT, M.D.; JOUSAN, F.D.; BEAL, W.E. The effects of varying the interval from
49 follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the

1 synchrony of estrus in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, n.6, p.1562-1567,
2 2003.

3
4 WALSH, S.W.; MOSSA, F.; BUTLER, S.T.; BERRY, D.P.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-
5 KRASSEL, F.; TEMPELMAN, R.J.; CARTER, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.;
6 IRELAND, J.J. Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral
7 follicle count in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.4503-4511, 2014.

8
9 WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; GONG, J.G.; ARMSTRONG, D.G. Control of
10 follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal**
11 **Science**, v.82, p.63-74, 2004.

12
13 WILLIAMS, G.; STANKO, R. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle.
14 **Proceedings of the American Society of Animal Science**, Champaign, IL, v. 77, p. 1-
15 12, 2000.

16
17 ZENG, Z.; LIU, F.; LI, SHIXIAN. METABOLIC Adaptations in Pregnancy: A Review.
18 **Annals of Nutrition & Metabolism**, v.70, p. 59-65, 2017.

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

5 CONCLUSÕES

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

- A taxa de concepção foi superior no grupo de alta em comparação com o grupo intermediário aos 30 dias de concepção e aos 60 dias após a inseminação artificial.
- O ECC variou entre o grupo de alta e o grupo intermediário. Houve diferença entre o peso dos animais entre o grupo de alta e o grupo de baixa.
- O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi menor no grupo de alta comparado ao grupo intermediário.
- A CFA aumentou nas vacas entre as concepções com 30 e 60 dias em relação ao momento da inseminação artificial.