



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JOSÉ HENRIQUE AYRES DIAS

DEMONSTRAÇÃO DE ESTRO E TAXA CONCEPÇÃO À IATF
DE VACAS NELORE COM ALTA, INTERMEDIÁRIA OU BAIXA
CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIIS

Londrina

2018

JOSÉ HENRIQUE AYRES DIAS

DEMONSTRAÇÃO DE ESTRO E TAXA CONCEPÇÃO À IATF
DE VACAS NELORE COM ALTA, INTERMEDIÁRIA OU BAIXA
CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS

Orientadora: Profa. Dra. Katia Cristina Silva Santos

Londrina

2018

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

Dias, José Henrique Ayres .

Demonstração de esto e taxa de concepção à IATF de vacas nelore com alta, intermediária e baixa contagem de folículos antrais. / José Henrique Ayres Dias. - Londrina, 2018.
46 f. : il.

Orientador: Katia Cristina Silva Santos.

Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2018.

Inclui bibliografia.

1. Estro - Tese. 2. Contagem de folículos antrais - Tese. 3. IATF - Tese. I. Silva Santos, Katia Cristina . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

JOSÉ HENRIQUE AYRES DIAS

DEMONSTRAÇÃO DE ESTRO E TAXA CONCEPÇÃO À IATF
DE VACAS NELORE COM ALTA, INTERMEDIÁRIA OU BAIXA
CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS

Dissertação apresentada ao
Departamento de Clínicas Veterinárias da
Universidade Estadual de Londrina como
requisito parcial para a obtenção do título
de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Katia Cristina Silva Santos
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Gustavo Martins Gomes dos Santos
Sheep Embryo – Reprodução Animal

Londrina, 21 de Agosto de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Henrique e Cida, pelo amor, carinho e toda educação que me proporcionaram até hoje e também todo apoio que me ajudou ser a pessoa que hoje sou e chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me proporcionar a vida e alcançar todos os meus sonhos e objetivos. Agradeço a Professora Dra. Katia, por todos os ensinamentos, orientação e por ter acreditado em mim nessa caminhada.

Ao Dr. Gustavo por todos esses anos de trabalho amizade e parceria, principalmente pela minha formação profissional e moral.

A Sheep Embryo - Reprodução Animal, por ter proporcionado a realização do trabalho, e também todo conhecimento que ali conquistei e venho aprendendo a cada dia.

A toda minha família que sempre foi à base de tudo e me proporcionaram estar aqui hoje, sempre me motivando e apoiando nos momentos em que tive dificuldades.

A meu tio Valter que sempre me apoiou na escolha da Medicina Veterinária, sempre me incentivando a aprender mais a cada dia.

Agradeço a minha namorada Nathalia pelo companheirismo, amor, paciência e toda ajuda durante o mestrado, agradeço aos meus amigos da graduação e amigos do colégio por todos esses anos de amizade.

Aos professores membros da banca de qualificação (Prof. Dr. Fabio Morotti e Prof. Dr. Flavio Barca) agradeço pelas contribuições e sugestões. Aos membros da banca de defesa (Prof. Dr. Marcelo Seneda e Prof. Dr. Gustavo) agradeço por fazerem parte deste momento da minha vida profissional, e todo conhecimento e tempo para contribuir com esse trabalho.

Aos colegas da turma do Mestrado Profissional, aos docentes pelos ensinamentos e conselhos dados.

E também a todos os funcionários das fazendas Santo Onofre e Peral Vermelho.

MUITO OBRIGADO!

DIAS, José Henrique Ayres. **Demonstração de estro e taxa concepção à iatf de vacas nelore com alta, intermediária ou baixa contagem de folículos antrais** 2018. 46fls. Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do número de folículos antrais sobre a apresentação de estro e concepção de vacas Nelore durante a sincronização da ovulação. Vacas Nelore (*Bos indicus*; n = 271), múltiparas, entre 30 a 60 dias pós-parto e ECC $3 \pm 0,5$ foram avaliadas por ultrassonografia (transdutor linear 6 MHz; A5V, Sonoscape, Shinzhen, China) para contagem de folículos antrais (CFA) ≥ 3 mm de diâmetro no D0 (início do protocolo de IATF) e separação dos grupos, com base na média da população folicular ± 1 DP: alta CFA (G-Alta; ≥ 50 folículos, n = 70), intermediária CFA (G-Intermediária; 30-35 folículos, n = 114) ou baixa CFA (G-Baixa; ≤ 25 folículos, n = 87). Em dias aleatórios do ciclo estral (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal 1 g P4 (Fertilcare 1200[®], Vallé, Montes Claros, Brasil) e 2 mg BE (Fertilcare sincronização[®], Vallé), IM. Na retirada do implante (D8), receberam 500 μ g de cloprostenol sódico (Ciosin[®], MSD, São Paulo, Brasil), 300 UI de eCG (Folligon[®], MSD) e 1 mg CE (Fertilcare ovulação[®], MSD), IM, e foram marcadas com bastão marcador (Raidex[®], Walmur, Alemanha) na base da cauda para posterior detecção de estro no dia da inseminação. As vacas foram inseminadas em tempo fixo (IATF) 48-52 h após a retirada do dispositivo de P4 (D10). A apresentação de estro foi considerada para as fêmeas cuja tinta foi removida da base da cauda. O diagnóstico de gestação por ultrassonografia foi realizado 30 dias após a IATF. A comparação entre as taxas de concepção e de apresentação de estro foi realizada pelo teste de Qui-quadrado. Para as análises, $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Não houve diferença na taxa de apresentação de estro entre os grupos de baixa (69%; 60/87), intermediária (76%; 87/114) e alta CFA (76%; 53/70; $p > 0,05$). A taxa de concepção à IATF não diferiu entre os grupos ($p > 0,05$; 44% - 38/87 G-Baixa CFA; 51% - 58/114 G- Intermediária CFA; 57% - 40/70 G-Alta CFA). Concluiu-se que fêmeas Nelore com alta, intermediária ou baixa CFA, submetidas a protocolo de IATF, não apresentaram diferença na taxa de apresentação de estro e na taxa de concepção.

Palavras-chave: cio; CFA; inseminação artificial; *Bos indicus*, bovinos.

DIAS, José Henrique Ayres. **Estrus behavior and conception rates at TAI of Nelore cows with high, intermediate or low antral follicles count.** 2018. 45fls. Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of the number of antral follicles on estrus expression and Nelore cows conception during ovulation synchronization. Multiparous Nelore cows (*Bos indicus*; n = 271), between 30 and 60 days postpartum and ECC 3 ± 0.5 were evaluated by ultrasonography (6 MHz linear transducer, A5V, Sonoscape, Shinzhen, China) for the counting of antral follicles (AFC) ≥ 3 mm in diameter at D0 (beginning of the TAI protocol) and separation of groups, based on the medium number of follicles ± 1 SD: high AFC (G-High, ≥ 50 follicles, n = 70), intermediate AFC (G-Intermediate, 30-35 follicles, n = 114) or low AFC (G-Low AFC, ≤ 25 follicles, n = 87). On random days of the estrus cycle (D0), cows received 1 g P4 intravaginal device (Fertilcare 1200®, Vallé, Montes Claros, Brazil) and 2mg EB (Fertilcare sincronização®, Vallée), IM. After the device withdraw (D8), they received 500 μ g of sodium cloprostenol (Ciosin®, MSD, São Paulo, Brazil), 300 IU eCG (Folligon®, MSD) and 1 mg EC (Fertilcare ovulation®, MSD), IM, and were stained with a stick marker paint (Raidex®, Walmur, Germany) at the base of the tail for further estrus detection on the day of insemination. Cows were inseminated (TAI) 48-52 h after removal of the P4 device (D10). The manifestation of estrus was considered for females whose paint was removed from the base of the tail. The diagnosis of gestation by ultrasonography was performed 30 days after TAI. The comparison between conception and estrus presentation rates was performed using the chi-square test. For all analyzes, $P \leq 0.05$ was considered statistically significant. There was no difference in estrus presentation rate among the low (69%; 60/87), intermediate (76%; 87/114) and high AFC groups (76%; 53/70, $P > 0.05$). The conception rates to TAI did not differ between groups ($P > 0.05$; 44% - 38/87 G-Low AFC; 51% - 58/114 G-Intermediate AFC; 57% - 40/70 G-High AFC). It was concluded that Nelore females with high, intermediate or low AFC, submitted to a TAI protocol, showed no difference in estrus behavior and conception rates.

Keywords: estrus; AFC; artificial insemination; *Bos indicus*, cattle.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxa de apresentação de estro e de concepção de vacas com baixa (≤ 25 folículos), intermediária (30- 35 folículos) ou alta (≥ 50 folículos) contagem folicular (CFA), submetidas a protocolo de IATF.	37
---	----

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1. Representação esquemática do desenvolvimento dos folículos ovarianos. 1) Oócito primário; 2) Célula da Pré-granulosa; 3) Membrana basal; 4) Células da Granulosa; 5) Cavidade antral; 6) Célula da teca e 7) Oócito secundário. 12

Artigo

Figura 1. Representação esquemática do protocolo de sincronização da ovulação utilizado em fêmeas bovinas zebuínas. 36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE	Benzoato de Estradiol
CE	Cipionato de Estradiol
CFA	Contagem de Folículos Antrais
CL	Corpo Lúteo
D	Dia
E2	Estradiol
ECC	Escore de Condição Corporal
eCG	<i>equine chorionic gonadotropin</i> - Gonadotrofina Coriônica Equina
FD	Folículo Dominante
FSH	<i>Follicle Stimulating Hormone</i> - Hormônio Folículo Estimulante
FOPA	Folículos Ovárianos Pré- antrais
g	Grama
GDF-9	Fator de crescimento e diferenciação-9
GNRH	<i>Gonadotrophin-releasing Hormone</i> - Hormônio Liberador de Gonadotrofina
h	Horas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo-Fixo
IM	Intramuscular
LH	<i>Luteinizing Hormone</i> - Hormônio Luteinizante
mg	Miligrama
P4	Progesterona
PIVE	Produção in vitro de Embriões
PGF2 α	Prostaglandina F2 Alfa
SOV	Superovulação
UI	Unidades Internacionais
μ g	Micrograma
μ m	Micrometro
US	Ultrassonografia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 FOLÍCULOS OVARIANOS	12
2.1.1 FOLÍCULOS PRÉ ANTRAIIS.....	13
2.1.2 FOLÍCULOS PRIMORDIAIS	14
2.1.3 FOLÍCULOS PRIMÁRIOS	14
2.1.4 FOLÍCULOS SECUNDÁRIOS	15
2.1.5 FOLÍCULOS ANTRAIIS.....	15
2.2 POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA.....	16
2.3 FISILOGIA DO CICLO ESTRAL EM BOVINOS	16
2.4 DETECÇÃO DE ESTRO EM FÊMEAS BOVINAS	18
2.5 CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIIS E SUA RELAÇÃO COM FERTILIDADE	20
REFERÊNCIAS.....	22
3 HIPÓTESE	31
4 OBJETIVOS	32
4.1 OBJETIVO GERAL	32
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
5 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	33
1 Introdução	33
2 Material e Métodos.....	35
2.1 Animais e local do experimento	35
2.2 Contagem de folículos antrais e protocolo hormonal para a sincronização da ovulação	35
2.3 Análise estatística	36
3 Resultados	37
4 Discussão	37
REFERÊNCIAS.....	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	45

1 INTRODUÇÃO

O rebanho brasileiro é considerado o maior rebanho comercial do mundo com aproximadamente 218,23 milhões de animais (IBGE, 2016), perdendo em números apenas para Índia, que não se trata de um país consumidor de carne bovina por questões culturais. O plantel bovino brasileiro é composto por aproximadamente 85% de raças zebuínas e cruzamentos, sendo 90% são animais da raça Nelore ou anelorados (ABIEC, 2013).

Atualmente no Brasil, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) corresponde a 85% dos protocolos de inseminação realizados, ocupando uma importante posição no mercado da bovinocultura. Em 2015, a IATF moveu em torno de R\$567 milhões no Brasil, com aproximadamente 3.500 médicos veterinários diretamente envolvidos com essa atividade. Apesar dos vários benefícios que essa biotecnologia proporciona, apenas 10 a 12% das fêmeas em idade reprodutiva são de fato inseminadas em nosso país (BARUSELLI, 2016).

Porém, ainda há espaço para avanços na pecuária brasileira. É necessário, buscar melhorias de produtividade e qualidade de carne para atender a um mercado consumidor cada vez maior e mais exigente. Com isso, nas últimas décadas tem-se um aumento na utilização de programas que proporcionam maior eficiência na pecuária, como sincronização do estro e da ovulação, permitindo assim a realização da IATF (MENEGHETTI et al., 2009).

Os atuais índices de prenhez com emprego da IATF variam de 40 a 50% e podem ser melhorados, já que, sofrem influência de variáveis como nutrição, período pós-parto e enfermidades (BÓ et al., 2003; IRELAND et al., 2008). Atualmente, a população de folículos antrais vem sendo objeto de estudos, sendo considerada mais uma possível variável capaz de influenciar os resultados obtidos na utilização das biotecnologias reprodutivas, sendo uma provável causa de mudanças nas taxas de concepção de rebanhos submetidos a essas técnicas (IRELAND et al., 2011; EVANS et al., 2012; RICO et al., 2012; SILVA-SANTOS et al., 2013; MENDONÇA et al., 2013; SANTOS et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013; MORAES, 2016; MOROTTI et al., 2018).

Estudos relacionados à CFA vêm mostrando divergências entre as subespécies *Bos taurus* e *Bos indicus*. Pesquisas realizadas na Europa e América do Norte mostram que animais *Bos taurus* apresentaram maior taxa de prenhez e maior produção de embriões nos animais com alta CFA, determinando assim uma maior fertilidade (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2007; 2008; 2009; 2011; MOSSA et al., 2012; EVANS et al., 2012; WALSH et al., 2014; MARTINEZ et al., 2016).

Entretanto, estudos realizados no Brasil, com animais *Bos indicus*, não apresentaram os mesmos resultados apresentadas pelos animais *Bos taurus* nas condições apresentadas, já que não foram observadas diferenças em relação à taxa de concepção à IATF entre grupos de alta, intermediária e baixa CFA (RODRIGUES et al., 2013; 2015; SANTOS et al., 2016; MENDONÇA et al., 2013; MORAES, 2016). Além disso, há estudos onde o grupo de baixa CFA apresentou maior prenhez ao final do protocolo de IATF (SANTOS et al., 2013; MOROTTI et al., 2018).

Neste contexto, buscando-se um melhor entendimento no que se refere à variável CFA dentro do protocolo de IATF, o objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de apresentação de estro e concepção de fêmeas Nelore (*Bos indicus*) de alta, intermediária ou baixa CFA, após a realização de protocolo de IATF.

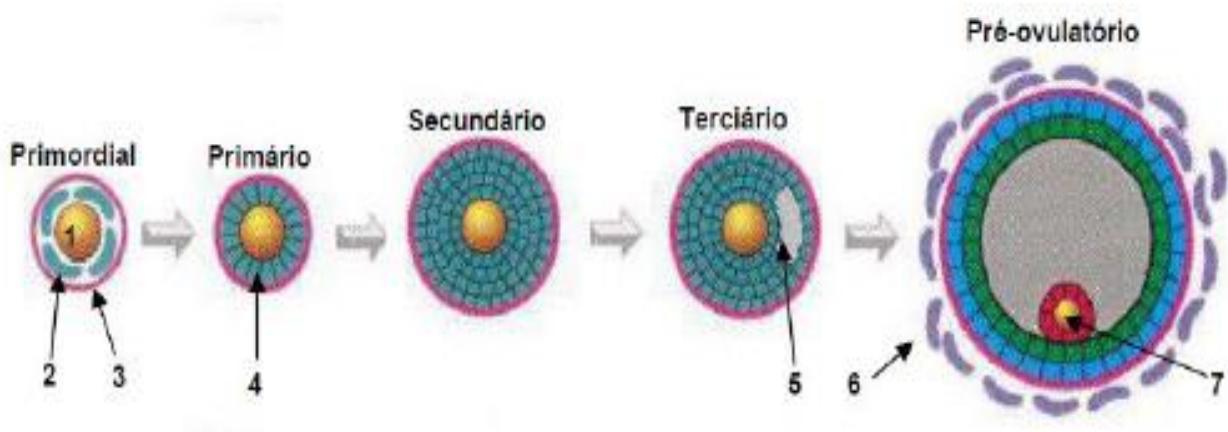
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FOLÍCULOS OVARIANOS

O folículo é a unidade morfofuncional do ovário, constituído por um oócito circundado por células somáticas da granulosa e tecais. O folículo possui função endócrina (produção e liberação de hormônios esteroides e outros peptídeos) e exócrina ou gametogênica, apresentando-se como elemento essencial para a manutenção da viabilidade oocitária. Assim, o folículo proporciona um ambiente ideal para o crescimento e a maturação do oócito imaturo, permitindo então que o oócito maduro alcance a ovulação (FIGUEIREDO et al., 2002).

A população de folículos ovarianos, nas fêmeas bovinas, localiza-se no córtex ovariano, sendo classificada em folículos pré-antrais ou não cavitários (primordiais, em transição, primários e secundários) e folículos antrais ou cavitários (terciários e pré-ovulatórios; Figura 1), de acordo com o grau de desenvolvimento folicular. (RODGERS et al., 1999).

Figura 1. Representação esquemática do desenvolvimento dos folículos ovarianos. 1) Oócito primário; 2) Célula da Pré-granulosa; 3) Membrana basal; 4) Células da Granulosa; 5) Cavidade antral; 6) Célula da teca e 7) Oócito secundário.



(Fonte: Adaptado de RODGERS et al., 1999)

Na fase inicial do crescimento folicular, admite-se uma ação predominantemente local (fatores intraovarianos), e destes vários fatores de

crescimento já foram identificados nas primeiras modificações foliculares. Já foram estudados diversos destes fatores, dentre eles o *KIT ligand* (PARROT; SKINNER, 1999), o fator de crescimento e diferenciação – GDF-9 (VITTE et al., 2000), fator de crescimento de fibroblasto – bFGF (NILSSON et al., 2001) e o fator inibidor de leucemia – LIF (NILSSON et al., 2002).

Os folículos ovários pré-antrais (FOPA) representam 90% da população folicular (SAUMANDE, 1991) e são responsáveis pela renovação contínua de folículos antrais no ovário (GUILBAULT et al., 1986). Contudo, aproximadamente 99,9% dos folículos pré-antrais presentes nos ovários não chegam até a ovulação (CARROL et al., 1990), já que sofrem um processo degenerativo ou apoptótico conhecido como atresia.

Existem controvérsias relacionadas ao aparecimento de folículos primordiais em ovários de fetos bovinos, com relatos ao redor de 74 (TANAKA et al., 2001), 90 (RUSSE, 1983) e 150 dias de gestação (MOUSTAFA; HAFEZ, 1971). Além disso, os mecanismos envolvidos com o recrutamento e a ativação desses folículos são pouco compreendidos, ainda que após sua ativação, estima-se que em cerca de 100 dias o folículo primordial bovino já alcance o estágio pré-ovulatório (BRITT, 1991).

2.1.1 FOLÍCULOS PRÉ ANTRAIS

Os folículos pré-antrais são classificados conforme seu formato e o número de camadas celulares que circundam o oócito imaturo em primordiais, primários e secundários (FIGUEIREDO et al., 2002). Os folículos primordiais e primários não são distinguidos pelo diâmetro, apenas por características morfológicas (HULSHOF et al., 1994). Os folículos primordiais apresentam o oócito circundado por uma camada de 4 a 8 células da granulosa achatadas, já os primários, um oócito rodeado por uma camada de 11 a 12 células da granulosa cubodais e os secundários, mais de uma camada de células da granulosa cubodais.

Além desta classificação, os folículos pré-antrais, podem ser classificados de acordo com o grau de viabilidade em folículos saudáveis (com lâmina basal intacta, oócito com não mais de três vacúolos citoplasmáticos, vesícula

germinativa e nucléolos intactos), folículos em atresia inicial (estágio I: oócito com mais de três vacúolos citoplasmáticos e início de descondensação da cromatina), folículos com atresia moderada (estágio II: oócito com nucléolo e citoplasma com fragmentação e alta condensação da cromatina) ou folículos com atresia acentuada (estágio III: oócito completamente fragmentado ou ausente; BUTLER, 1970; WANDJI et al., 1996).

2.1.2 FOLÍCULOS PRIMORDIAIS

Nos bovinos, próximo aos 130 dias de gestação, uma camada de células somáticas planas ou achatadas, as células da pré-granulosa, circundam o oócito primário ou imaturo (em profase I), formando o primeiro estágio folicular, o folículo primordial. Após sua formação, as células da pré-granulosa param sua multiplicação e o folículo entra no período de quiescência ou dormência. A proliferação só é retomada quando o folículo primordial (quiescente) começa a crescer, meses ou anos após sua formação (HIRSHFIELD, 1991). O oócito possui 20-25 μm e o folículo primordial de 30-40 μm de diâmetro (BECKERS et al., 1996) com o núcleo ocupando posição central e nucléolo evidente. As organelas são uniformemente distribuídas no citoplasma ou próximas ao núcleo. A mitocôndria é a organela com maior evidência, sendo o seu formato geralmente arredondado. Outras organelas, como o Retículo Endoplasmático Liso e o Complexo de Golgi, são pouco desenvolvidas e possuem vesículas espalhadas pelo citoplasma (LUCCI et al., 2001). A maioria dos oócitos no ovário são armazenados nos folículos primordiais, sendo que os mecanismos de recrutamento e ativação desses folículos ainda não são bem estabelecidos.

2.1.3 FOLÍCULOS PRIMÁRIOS

Após o recrutamento, o folículo primordial evolui para folículo primário, com células da granulosa em formato cuboide (HULSHOF et al., 1994) presentes em maior quantidade e com maior volume (VAN DER HURK et al., 2005).

A medida do folículo e oócito, nos bovinos, são de respectivamente 40-60 μ m e 30-40 μ m de diâmetro (BECKERS et al., 1996). Nessa etapa, acontece o surgimento da zona pelúcida, estrutura ao redor do oócito mantida em todo o desenvolvimento folicular (FIGUEIREDO et al., 2002). O citoplasma do folículo primário, assim como o do folículo primordial, contém diversas mitocôndrias arredondadas. Com o desenvolvimento do folículo, ocorre o alongamento da mitocôndria (LUCCI et al., 2001).

2.1.4 FOLÍCULOS SECUNDÁRIOS

O folículo secundário apresenta o oócito mais desenvolvido, a zona pelúcida e as primeiras células da teca já formadas (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005) e pelo menos duas camadas de células da granulosa (HULSHOF et al., 1994). Em vacas, o folículo atinge 60-200 μ m de diâmetro (FIGUEIREDO et al., 2002).

O núcleo do folículo secundário passa de uma posição central no oolema para uma região excêntrica, situando-se na região entre a zona pelúcida e o centro do oócito. As organelas também se deslocam mais próximas à periferia (HYTTEL et al., 1997). A maioria das mitocôndrias possui formato alongado e o retículo endoplasmático liso aumenta de tamanho (LUCCI et al., 2001). A comunicação entre as células da granulosa e o oócito, nos folículos secundários e estágios subsequentes, é realizada por junções intercomunicantes (*GAP junctions*; HYTTEL et al., 1997).

2.1.5 FOLÍCULOS ANTRAI

Os folículos antrais compreendem os folículos terciários e os folículos pré-ovulatórios. Com a intensa proliferação das células da granulosa, surge o antro folicular, uma área preenchida por fluido folicular e considerada principal característica do folículo antral (FIGUEIREDO et al., 2002). O aparecimento dos primeiros folículos terciários em bovinos é observado aproximadamente com 230 dias de gestação (ERICKSON, 1966; RUSSE, 1983). A partir de então, os folículos

com diâmetros entre 0,14 e 0,28 mm começam a desenvolver a cavidade antral (LUSSIER et al., 1987). Nos bovinos os folículos primordiais crescem em tamanho e diâmetro, passando de 0,020 a 0,040 mm para mais de 10 mm antes da ovulação (IRELAND, 1987). Para um folículo crescer do início da formação do antro (0,13 mm) ao tamanho pré-ovulatório são necessários dois ciclos estrais (LUSSIER et al., 1987).

2.2 POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA

A população folicular ovariana é influenciada por diferentes fatores como espécie, raça (CAHILL et al., 1979), idade, níveis hormonais (PETERS, 1976; RUSSE, 1983; ROY; TREACY, 1993), genética (ERICKSON, 1966; SMITH et al., 1994) e estado reprodutivo do animal (ERICKSON et al., 1976). A variação individual na população folicular ovariana, é em torno de 0 e 720.000 folículos por ovário para fêmeas bovinas (ERICKSON, 1966). Estima-se que a população folicular ovariana ao nascimento em vacas, seja de aproximadamente 235.000 folículos (ERICKSON, 1966). Já foi relatada estimativa da população folicular pré-antral em ovários de fêmeas bovinas de diferentes idades e raças, com valores de 143.929 e 285.155 folículos para fetos, 76.851 e 109.673 folículos para novilhas, e 39.438 e 88.577 folículos para vacas, *Bos indicus* e *Bos taurus* respectivamente (SILVA-SANTOS et al., 2011).

2.3 FISILOGIA DO CICLO ESTRAL EM BOVINOS

O ciclo estral é um período cíclico de atividade ovariana, permitindo que as fêmeas mudem entre a condição de não receptividade à receptividade, cópula e gestação (FORDE et al., 2011; HAFEZ; HAFEZ, 2004). As fêmeas *Bos indicus* iniciam a puberdade ao redor de 15 a 18 meses de idade ou quando atingem cerca de 60 a 70% do peso corporal adulto (NOGUEIRA, 2006). Já as fêmeas taurinas, próximo aos 12 meses ou ao atingirem 40 a 50% do peso corporal adulto (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). Os bovinos são considerados poliéstricos

anuais, ou seja, apresentam ciclo estral o ano todo, com duração média do ciclo estral de 21 dias (ROCHE, 1996).

Nos bovinos, os hormônios hipotalâmicos (hormônio liberador de gonadotrofinas - GnRH), hipofisários (hormônio foliculo estimulante; FSH e hormônio luteinizante; LH), ovarianos (Progesterona – P4, Estradiol - E2 e Inibinas) e uterino (Prostaglandina - PGF2 α) são responsáveis por regular as funções ovarianas (recrutamento e crescimento folicular, ovulação, luteinização e luteólise) através de um sistema de *feedback* positivo e negativo (ROCHE, 1996; CROWE, 2008; FORDE et al., 2011). Durante o ciclo estral, acontecem duas ou três ondas de crescimento folicular ovariana (GINTHER et al., 1989), com emergência de um grupo de folículos, seleção de um folículo dominante (FD) e posterior ovulação ou atresia do mesmo (FORDE et al., 2011).

O ciclo estral das fêmeas bovinas é composto por duas fases, lútea ou progesterônica (metaestro e diestro), que se inicia logo após a ovulação com duração de 14 a 18 dias, caracterizada pela presença do corpo lúteo (CL), e a fase folicular ou estrogênica (pró-estro e estro), com duração de 4 a 6 dias, ocorrendo após o desaparecimento do CL (luteólise) até o momento da ovulação, onde acontece a maturação final e a ovulação do folículo pré-ovulatório (FORDE et al., 2011).

O GnRH atua sobre a hipófise anterior ou adenohipófise, promovendo a liberação de gonadotrofinas produzidas na hipófise posterior ou neurohipófise (FORDE et al., 2011). Posteriormente ao seu transporte via sistema porta hipotalâmico-hipofisário, o GnRH liga-se aos receptores de superfície celular e sinaliza a liberação de FSH e LH (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). No citoplasma, grânulos secretores armazenam FSH em períodos curtos de tempo, enquanto o LH é armazenado por períodos mais longos do ciclo estral (FARNWORTH, 1995).

Durante a fase denominada folicular, quando os níveis de P4 estão basais decorrente da ausência do CL, há o aumento dos níveis plasmáticos de E2 pelo aumento do diâmetro do FD, levando a manifestação do comportamento do estro, caracterizado pela aceitação da monta e proporcionando o aumento do GnRH estimulando a produção de LH (FORDE et al., 2011).

O aumento da frequência dos pulsos de LH tem como consequência a ovulação, que ocorre cerca de 10 a 14 horas após o estro. Em seguida, ocorre o metaestro, com duração de 3 a 4 dias, caracterizada pela formação do CL a partir do corpo hemorrágico, resultante da ovulação do folículo pré-ovulatório (ROCHE, 1996).

A luteinização das células da granulosa e da teca interna formam o CL, que é responsável pela produção de P4 que mantém a gestação ou o diestro. Nessa fase, as concentrações de P4 permanecem elevadas e os folículos recrutados continuam seu desenvolvimento devido à liberação do FSH pela hipófise anterior. Entretanto, os folículos recrutados nessa fase não ovulam devido aos baixos pulsos de LH para a ovulação, devido ao *feedback* negativo desempenhado pelo elevados níveis de P4, sofrendo atresia (CROWE, 2008). Com a regressão do CL na fase de metaestro, decorrente da secreção de PGF2 α uterina, as concentrações de P4 diminuem drasticamente, não ocasionando um *feedback* negativo, possibilitando então a ovulação (FORDE et al., 2011).

2.4 DETECÇÃO DE ESTRO EM FÊMEAS BOVINAS

O fator primordial para realização da inseminação artificial (IA) é a vaca estar em estro e ter uma posterior ovulação. Os sinais de estro são: inquietação e mugidos frequentes, redução na ingestão de alimentos e produção de leite, vulva edemaciada, mucosa vaginal hiperêmica, muco cristalino, monta em outros animais e, um dos mais importantes sinais, aceitação de monta (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

As fêmeas *Bos indicus* possuem algumas particularidades em relação ao estro. Vacas Nelore apresentam estros de curta duração, com $10,9 \pm 1,4$ horas, alta ocorrência de estro começando no período noturno (53,8%), estros com início e fim em mesma noite (34,6%) e com ovulação ocorrendo aproximadamente 26 horas após início do estro. Sendo assim, são animais de difícil observação de estro (PINHEIRO et al., 1998).

Estudos relataram que animais zebuínos que apresentaram estro após protocolo de IATF apresentaram maior função luteínica no ciclo subsequente, maior diâmetro do corpo lúteo e maiores concentrações séricas de P4 (SÁ FILHO et al., 2011), resultados também encontrados em animais de aptidão leiteira de alta produção (HILLEGASS et al., 2008). Vacas que não apresentam estro após protocolo de sincronização, devido à presença de folículos dominantes de menor diâmetro, podem também apresentar concentrações menores de E2 durante o pró-estro (FIELDS et al., 2012). Com isso, concentrações reduzidas de E2 podem levar a um maior risco de luteólise prematura no ciclo estral subsequente (MANN; LAMMING, 2010), podendo diminuir as taxas de sobrevivência embrionária (SANTOS et al., 2004).

A ocorrência de estro é um importante marcador para a melhor resposta ovariana e assim maior fertilidade em vacas submetidas a protocolo de sincronização de ovulação. Permite identificar fêmeas com maior chance de se tornarem gestantes, orientando a utilização de sêmen de maior valor agregado, sêmen sexado, com uma maior probabilidade de sucesso (SÁ FILHO et al., 2011).

Assim, o uso de técnicas para detecção de estro é de grande importância. Entre elas, a principal é a observação de estro visual, que por depender diretamente de pessoal treinado e disponibilidade de tempo, quando usada isoladamente, pode ser ineficiente (DISKIN; SCREENAM, 2000). Desta forma, técnicas eletrônicas são mais indicadas, pois se baseiam em medidas de movimentação (pedômetro), mudanças na resistência elétrica das secreções do trato reprodutivo e, sistemas que indiquem a ocorrência de monta (*tail-paint, chalk*, pintura da base da cauda, ou sensores de monta (radiotelemetria) e métodos bioquímicos (RORIE et al., 2002; CAETANO; CAETANO JR, 2015).

Outros métodos, que podem ser utilizados são os rufiões (touro com desvio lateral do pênis, para evitar penetração e/ou a fertilização) ou fêmeas tratadas com hormônio masculino, ambos equipados com buçal marcador preso ao pescoço marcando as vacas em cio. Todos eles apresentam resultados variáveis, sendo usados separadamente ou em conjunto (CAETANO; CAETANO JR, 2015).

2.5 CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIIS E SUA RELAÇÃO COM FERTILIDADE

A contagem de folículos antrais (CFA) teve início como uma característica indicativa de fertilidade inicialmente (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2007), e passou a ser alvo de muitos estudos científicos no meio acadêmico.

Em relação aos resultados obtidos com a aplicação das biotecnologias reprodutivas (IRELAND et al., 2011; RICO et al., 2012; SILVA-SANTOS et al., 2014), a CFA tem grande importância no aspecto produtivo e na seleção de vacas doadoras de embriões, principalmente em projetos de produção de embriões em larga escala, produzidos por fertilização *in vitro* (PIVE; PONTES et al., 2009, 2010, 2011).

A quantidade de folículos antrais em fêmeas bovinas é uma característica variável (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2008; 2011; EVANS et al., 2012;) mas que apresenta repetibilidade no mesmo indivíduo (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2008; SILVA-SANTOS et al., 2014). Assim, como esta característica, originalmente estudada em rebanhos taurinos e posteriormente em rebanhos zebuínos cruzados, possui alta repetibilidades, é possível classificar as fêmeas por meio de exame ultrassonográfico em fêmeas de baixa, intermediária ou alta CFA de acordo com o número de folículos antrais nos ovários (folículos maiores que 3 mm de diâmetro).

Para fêmeas taurinas, foi demonstrado que esta repetibilidade independe da estação do ano, do número de ondas de crescimento folicular por ciclo, da idade do animal e do *status* lactacional (BURNS et al., 2005). Também para fêmeas *Bos indicus* da raça Nelore, foi acompanhada a dinâmica folicular durante protocolo de IATF e relatada uma repetibilidade do número de folículos antrais (MOROTTI et al., 2018). Com isso, realizando apenas um exame ultrassonográfico de rotina seria possível identificar fêmeas com baixa, intermediária ou alta CFA.

Estudos realizados na Europa e América do Norte com fêmeas taurinas com baixa CFA, e aptidão para produção de leite (raça Holandesa) mostraram associação destas fêmeas com diversas características negativas para fertilidade, como ovários menores (IRELAND et al., 2008), menor chance de prenhez

ao final da estação reprodutiva (MOSSA et al., 2012), reduzida capacidade de resposta ao tratamento de produção *in vivo* de embriões (SOV), menor número de embriões viáveis (SINGH et al., 2004; IRELAND et al., 2007) e reduzida espessura do endométrio (JIMENEZ-KRASSEL et al., 2009). Entretanto, em recente estudo realizado por Jimenez-Krassel et al. (2017), vacas *Bos taurus* com alta CFA apresentaram uma menor vida produtiva e reprodutiva do que vacas com baixa CFA, gerando assim uma grande contradição com resultados anteriores.

Os estudos no Brasil relacionados à CFA em animais *Bos indicus* tem apresentado resultados diferentes, e um estudo com animais *Bos taurus* (raça Holandesa) também apresentou resultados divergentes aos encontrados com *Bos taurus* na Europa e América do Norte (DROHER et al., 2017). A baixa CFA em animais zebuínos e cruzamentos não estão sendo associada a características de baixa fertilidade (SANTOS et al., 2013; MENDONCA et al., 2013; MORAES; 2016; SANTOS et al., 2016; MOROTTI et al., 2018). Animais meio sangue *Bos indicus* x *Bos taurus* (Braford) apresentaram maiores taxas de crescimento do folículo dominante após acompanhamento da dinâmica folicular e os maiores diâmetros não foram encontrados em fêmeas de alta CFA (SANTOS et al., 2012).

Avaliando a relação da CFA com a taxa de concepção após a IATF, alguns estudos realizados com fêmeas *Bos indicus*, demonstraram que não houve diferença entre fêmeas com diferentes CFA em relação à taxa de concepção (SANTOS et al., 2016; MENDONCA et al., 2013; MORAES; 2016), e já foi relatada maior taxa de concepção para animais com baixa CFA (MOROTTI et al., 2018).

Vários fatores parecem estar relacionados à grande variabilidade no número de folículos antrais nos bovinos: diferenças entre os tipos raciais (*Bos taurus* e *Bos indicus*), rebanhos estudados, categorias das fêmeas e também a variação nos limites de CFA para determinação dos grupos. Desta forma, os trabalhos realizados não esclarecem totalmente a relação da CFA e a fertilidade dos animais zebuínos. É notável que a mesma não segue o mesmo padrão observado em fêmeas taurinas nas condições da América do Norte e Europa, e que mais estudos são necessários para esclarecer o comportamento de animais zebuínos e taurinos com diferentes CFA submetidos à IATF e outras biotecnologias.

REFERÊNCIAS

- ABIEC. **Associação Brasileira das indústrias Exportadoras de carnes**. 2013. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/3_rebanho.asp#>. Acesso em 20/06/2017.
- BARUSELLI, P.S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. **Revista CFMV**, v. 69, p.57-60, 2016.
- BECKERS, J. F., DRION, P. V., FIGUEIREDO, J. R. GOFFIN, L. PIROTTIN, D., ECTORS, F.J. The ovarian follicle in cow: In vivo growth and in vivo culture. **Reproduction In Domestic Animals**, v.31, p.543-548, 1996.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTÍNEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.
- BRITT, J.H. Impacts of early postpartum metabolism of follicular development and fertility. **Bovine Practice**, v.24, p.39-43, 1991.
- BURNS et al, Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. **Biology of Reproduction**, v.73, p.53-62, 2005.
- BUTLER, H.W. Ultrastructural studies on mitochondrial swelling. **Journal of Biochemistry**, v.118, p.883-886, 1970.
- CAETANO, G.A.O.; CAETANO JÚNIOR, M.B. Métodos de detecção de estro e falhas relacionadas. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia (PubVet)** Maringá, v. 9, n. 8, p. 381-393, 2015.
- CAHILL, L.P.; MARIANA, J.C.; MAULÉON, P. Total follicular populations in ewes of high 29 and low ovulation rates. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.55, p.27-36, 1979.

CARROL, J.; WHITTINGHAM, D.G.; WOOD, M.J.; TELFER, E.; GOSDEN, R.G. Extra-32 ovarian production of mature viable mouse oocytes from frozen primary follicles. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, p.321-327, 1990.

CROWE, M.A. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, n.5, p.20-28, 2008.

DISKIN, M. G.; J. M. SCREENAM. Expression and detection of estrous in cattle. **Reproduction Nutrition Development**. 40, 481-491, 2000.

DROHER, G. R; MOROTTI, F; SANCHES, K. T; SENEDA, M. M. Efeitos da contagem de folículos antrais sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas. **Anais do XII Congresso Brasileiro de Buiatria**. Foz do Iguaçu-PR, p. 27-28, 2017.

ERICKSON, B.H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science**, v.25, p.800-805, 1966.

ERICKSON, B.H.; REYNOLDS, R.A.; MURPHREE, R.L. Ovarian characteristics and reproductive performance of the aged cow. **Biology of Reproduction**, v.15, p.555-560, 1976.

EVANS, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2355-2361, 2012.

FARNWORTH, P.G. Gonadotrophin secretion revisited. How many ways can FSH leave a gonadotroph?. **Journal of Endocrinology**, v.145, p.387-395, 1995.

FIGUEIREDO, J.R., RODRIGUES, A.P.R., AMORIM, C.A. Manipulação de oócitos inclusos em folículos pré-antrais – Moifopa. In;GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R.,FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 1.ed. São Paulo; Varela, p.340. 2002.

FIELDS, S. D.; GEBHART, K. L.; PERRY, B. L.; GONDA, M. G.; WRIGHT,C.L.; BOTT, R.C.; PERRY, G. A.; Influence of standing estrus before an injection of GnRH during a beef cattle fixed-tied AI protocol on LH release, subsequent concentration of progesterone, and steroidogenic enzyme expression. **Domestic Animal Endocrinology**, v.42, n.1, p.11-19, 2012.

FORDE, N., M.E. BELTMAN, G.B. DUFFY, P. DUFFY, J.P. MEHTA, P. O'GAORA, J.F. ROCHE, P. LONERGAN, AND M.A. CROWE. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. **Biology of Reproduction**, v.84, p.266-278, 2011.

GINTHER, O.J., KNOPF, L., KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 1989.

GUILBAULT, L.A.; DUFOURT, J.J.; THATCHER, W.W.; DROST, M.; HAIBEL, G.K. 29 Ovarian follicular development during early pregnancy in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.73, p.127-135, 1986.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Inseminação artificial**. 7^a edição. Barueri- SP: Editora Manole Ltda., 2004.

HANSENY, P. J. Effects of Environment on Bovine Reproduction. In: YOUNGQUIST, R.S.;THRELFALL, W.R. **Current therapy in large animal theriogenology**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 2007, p.431-442.

HILLEGASS, J; LIMA, F. S.; SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P. Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Jounal of Dairy Science**, v. 91, n. 11, p.4226-4237, 2008.

HIRSHFIELD, A.N. Development of follicles in the mammalian ovarian. **International Review of Cytology**, v.124, p.43-101, 1991.

HULSHOF, S.C.J., FIGUEIREDO, J.R., BECKERS, J.F., BEVERS, M.M., VAN DEN HURK,R. Isolation and characterization of preantral follicles from foetal bovine ovaries. **Veterinary Quarterly**, v.16,p.78-80, 1994.

HYTTEL, P., FAIR, T., CALLENSSEN, H. GREVE, T. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, v.47, p.23-32, 1997.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. V.44, 51p. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?&t=publicacoes>>. Acesso em: 04 de Janeiro de 2018.

IRELAND et al.,. Antral follicle count reliably predicts number of morphological healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of Reproduction**, v.79,p.1219-1225, 2008.

IRELAND et al.,. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human Reproduction**, v.22, p.1687-1695, 2007.

IRELAND, J.J. Control of follicular growth and development. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.34, p.39-54, 1987.

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

JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.; SMITH, G.W.; HOU, X.; DAVIS.J.S.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy Young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during the estrous cycles in cattle. **Biology of Reproduction**, v.80, p.5019-5027, 2009.

JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, M. D.; NEUDER, M. L.; PURSLEY, R. J.; IRELAND, J. J. A single ultrasound determination of ≥ 25 follicles ≥ 3 mm in diameter in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p.4226-4237, 2017.

LUCCI, C.M., SILVA, R.V., CARVALHO,C.A., FIGUEIREDO,R., BAO,N. Light microscopical and ultrastructural characterization of goat preatral follicles. **Small Ruminant Research**, v.41, p.61-69, 2001.

LUSSIER, J.G.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Growth rates follicles in the ovary of the cow. **Reproduction and Fertility**, v.81, p.301-307, 1987.

MARTINEZ, M.F.; SANDERSON, N.; QUIRKE, L.D.; LAWRENCE, S.B.; JUENGEL, J.L. Association between antral follicle count and reproductive measures in New

Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. **Theriogenology**, v.85, p.466-75, 2016.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, v.64, n. 3, p. 171– 80, 2000.

MENDONÇA, H. G. R.; SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS T. R. R.; BLASCHI, W.; MOROTTI, F.; MORAES, F. L. Z.; SENEDA, M. M. Pregnancy rates following FTAI of Nelore heifers (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 452, 2013.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p.179- 189, 2009.

MORAES, F. L. Z.; DINIZ, L. T.; MOROTTI, F.; SILVA, C. B.; ROSA, C. O.; SENEDA, M. M. Influência da contagem de folículos antrais na taxa de concepção de vacas inseminadas em tempo fixo. **Anais do I Congresso de Pesquisa em Saúde Animal e Humana**. Londrina-PR, p. 311-313, 2016.

MOROTTI, F.; MORETTI, R.; SANTOS, G M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; RAMOS CERQUEIRA, P. H.; SENEDA, M. M, ovarian follicular dynamics and conception rate in *bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. . **Animal Reproduction Science**. p. 170-177. 2018

MOSSA,F.;WALSH,S.W.; BUTLER, S.T.; BERR, D.P.;CARTER,F.;LONERGAN,P.; SAMITH,G.W.; IRELAND,J.J.; EVANS, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles \geq 3mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2355-2361, 2012.

MOUSTAFA, L.A.; HAFEZ, E.S. Prenatal development of the bovine reproductive system. 22 **Journal of Reproductive Medicine**, v.7, p.99-113, 1971.

NILSSON, E.; PARROT, J.A.; SKINNER, M.K. Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Molecular and Celular Endocrinology**, v.175, p.123-130, 2001.

NILSSON, E., KEZELE, P., SKINNER, M.K. Leukemia inhibiting factor (LIF) promotes primordial to primary follicle transition in rat ovaries. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.188, p.65-73, 2002.

NOGUEIRA, G.P. Puberdade e Maturidade sexual de novilhas *bos indicus*. In: **2º Simpósio internacional de reprodução animal aplicada**, v.1, 2006. Anais Londrina: SIRAA, p.101- 113, 2006.

PARROT, J.A., SKINNER, M.K. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Endocrinology**, v.140, n.9, p.4262-71, 1999.

PETERS, H. The development and maturation of the ovary. **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**, v.16, p.271-278, 1976.

PINHEIRO, O.L., BARROS, C.M., FIGUEREDO, R.A., VALLE, E.R. DO, ENCARNAÇÃO, R.O., PADOVANI, C.R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-81, 1998.

PONTES, J.H.F.; MELO-STERZA, F.A.; BASSO, A.C.; FERREIRA, C.R.; SANCHES, B.V.; RUBIN, K.C.P.; SENEDA, M.M. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. **Theriogenology**, v.75, p.1640-1646, 2011.

PONTES, J.H.F.; NONATO-JUNIOR, I.; SANCHES, B.V.; ERENO-JUNIOR, J.C.; UVO, S.; BARREIROS, T.R.R.; OLIVEIRA, J.A.; HASLER, J.F.; SENEDA, M.M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v.71, p.690-697, 2009.

PONTES, J.H.F.; SILVA, K.C.F.; BASSO, A.C.; RIGO, A.G.; FERREIRA, C.R.; SANTOS, G.M.G.; SANCHES, B.V.; PORCIONATO, J.P.F.; VIEIRA, P.H.S.; FAIFER, F.S.; STERZA, F.A.M.; SCHENK, J.L.; SENEDA, M.M. Large-scale in vitro embryos production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v.74, p.1349-1355, 2010.

RICO, C.; DROUILHET, L.; SALVETTI, P.; DALBIÈS-TRAN, R.; JARRIER, P.; TOUZÉ, J-L.; PILLET, E.; PONSART, C.; FABRE, S.; MONNIAUX, D. Determination

of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 932-944. 2012.

ROCHE, J.F. Control and regulation of folliculogenesis – A symposium in perspective. **Reviews of Reproduction**, v.1, p.19-27, 1996.

RODGERS, R.J.; LAVRANOS, T.C.; VAN WEZEL, I.L.; IRVING-RODGERS, H.F. Development of the ovarian follicular epithelium. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.151, p.171-179, 1999.

RODRIGUES, A. S.; OLIVEIRA, S. N.; FERRAZ, P. A.; LOIOLA, M. V. G.; COUTINHO, T. P.; SANTOS, M. M.; CHALHOULB, M. Antral follicle counts in Nellore females with different reproductive parameters and body condition score. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 395, 2013.

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

ROY, S.K.; TREACY, B.J. Isolation and long-term culture of human preantral follicles. **Fertility and Sterility**, v.59, p.783-790, 1993.

RUSSE, I. Oogenesis in cattle and sheep. **Bibliography of Anatomy**, v.24, p.77-92, 1983.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos Indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 455-463, 2011.

SANTOS, J. E.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, n., p. 513–35, 2004.

SANTOS, G.M.G. S; SANTOS, K.C.S; SILOTO, L.S; MOROTTI, F; MARCANTONIO, T.N ; THASMO, R.L.O ; KOETZ JR, C ; LIMA, D.C.M ; BELOTTO, A.F ; MARINHO, L.S.R ; SENEDA, M.M . Dinâmica folicular em fêmeas bovinas de alta, média e baixa contagem de folículos antrais: Resultados preliminares. **Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, Foz do Iguaçu, p. 336, 2012.

SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; MOROTTI, F.; SANCHES, B. V.; MORAES, F. L. Z.; BLASCHI, W.; SENEDA, M. M. High numbers of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 165, p. 17-21, 2016.

SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; BLASCHI, W.; MOROTTI, F.; SILVA, C. B.; MORAES, F. L. Z.; GIUDICISSI, D. P. L.; SENEDA, M. M. Conception rates following FTAI of Nelore cows (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v. 10, p.451. 2013.

SAUMANDE, J. La folliculogénese chez les ruminants. **Recueil Veterinaire de Medicina**, 29 v.167, p.205-218, 1991.

SILVA-SANTOS, K. C., MARINHO, L. S. R., SANTOS, G. M. G., MACHADO, F. Z., GONZALEZ, S. M., LISBOA, L. A., E SENEDA, M. M. . Ovarian follicle reserve: emerging concepts and applications. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 180-186, 2013.

SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; KOETZ JÚNIOR, C.; MOROTTI, F.; SILOTO, L.S.; MARCANTONIO, T.N.; URBANO, M.R.; OLIVEIRA, R.L.; LIMA, D.C.M.; SENEDA, M.M. Antral Follicle Populations and Embryo Production – *In Vitro* and *In Vivo* – of *Bos indicus*–*taurus* Donors from Weaning to Yearling Ages. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.228-32, 2014.

SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; SILOTO, L.S.; HERTEL, M.F.; ANDRADE, E.R.; RUBIN, M.I.B.; STURION, L.; STERZA, F.A.M.; SENEDA, M.M. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* females. **Theriogenology**, v.76, p.1051-1057, 2011.

SING, J.; DOMINGUEZ, M.; JAISWAL, R.; ADAMS, G.P. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. **Theriogenology**, v.62, p.227-243, 2004.

SMITH, P.W.S-O.; BRAW-TAL, R.; CORRIGAN, K.; HUDSON, N.L.; HEATH, D.A.; McNATTY, K.P. Ontogeny of ovarian follicle development in Booroola sheep fetuses that are homozygous carriers or non-carriers of the FecB gene. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.98, p.41-54, 1994.

TANAKA, Y.; NAKADA, K.; MORIYOSHI, M.; SAWAMUKAI, Y. Appearance and number of follicles and change in the concentration of serum FSH in female bovine fetuses. **Reproduction**, v.121, p.777-782, 2001.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717-1751, 2005.

VITT, U.A., MCGEE, E.A., HAYASHI, M., HSUCH, A.J. In vivo treatment with GDF(stimulates primordial and primary follicle progression and theca cell marker CYP17 in ovaries of immature rats. **Endocrinology**, v.141, p.3814- 20, 2000.

WALSH, S. W.; MOSSA, F.; BUTLER, S. T.; BERRY, D. P.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J. J. Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral follicle count in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 4503 4511, 2014.

WANDJI, S. A., EPPIG, J. J., FORTUNE, J. E. FSH and growth factors affect the growth and endocrine function *In vitro* of granulosa cells of bovine preantral follicles. **Theriogenology**, v.45, p. 817-832, 1996.

3 HIPÓTESE

Vacas Nelore com baixa contagem de folículos antrais (CFA) apresentam maior taxa de apresentação de estro e concepção após protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho reprodutivo de vacas com alto, intermediário ou baixo número de folículos antrais presentes nos ovários, submetidas à inseminação artificial em tempo fixo - IATF.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a taxa de apresentação de estro entre vacas Nelore com alta, intermediária ou baixa contagem de folículos antrais (CFA) após a realização de protocolo para sincronização da ovulação;
- Comparar a taxa de concepção à IATF entre vacas Nelore com alta, intermediária ou baixa CFA.

5 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

“Influência da contagem de folículos antrais sobre a taxa de apresentação de estro e de concepção de vacas Nelore submetidas ao protocolo de IATF”

1 Introdução

O uso das biotécnicas reprodutivas, tais como inseminação artificial (IA), inseminação artificial em tempo fixo (IATF), produção *in vitro* (PIVE) e *in vivo* de embriões (SOV/TE) são instrumentos considerados fundamentais para o progresso do setor pecuário. Elas favorecem, em um curto período, a seleção, multiplicação e disseminação de animais de alto valor genético e elevado potencial produtivo. Gerando maior retorno financeiro ao pecuarista (HANSEN, 2014). O uso de estratégias farmacológicas específicas possibilita o controle das fases do desenvolvimento folicular, facilitando o manejo reprodutivo e o uso das biotécnicas reprodutivas (BARUSELLI et al., 2004; LAMB et., 2010).

Nos últimos anos, a bovinocultura de corte vem se tornando cada vez mais eficiente. O conhecimento da fisiologia do ciclo estral dos bovinos é um dos responsáveis por esses avanços na produtividade. Neste contexto um dos assuntos estudados é a aceitação de monta das fêmeas durante o ciclo estral, que sinaliza a presença do folículo dominante produzindo elevadas concentrações de estrógenos (E2), o que determina o momento da monta (SÁ FILHO et al., 2012). Mesmo nos protocolos de IATF, onde a ovulação é sincronizada, o protocolo pode não ser eficiente em todas as vacas, não apresentando um folículo pré-ovulatório, menor concentração de E2 e assim não expressando estro (SÁ FILHO et al., 2011).

Além do ciclo estral, aspectos relacionados à população folicular e sua influência sobre o desempenho reprodutivo e a eficiência das biotecnologias da reprodução em bovinos tem sido estudados nos últimos anos (IRELAND et al., 2011; RICO et al., 2012; BATISTA et al., 2014; SILVA-SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2016). Entretanto, características relacionadas à fertilidade e à população

folicular ovariana (MOROTTI et al., 2015), bem como as diferenças entre subespécies (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*) ainda são desconhecidas.

Na Europa e América do Norte, estudos com fêmeas bovinas *Bos taurus* correlacionando CFA e desempenho reprodutivo revelaram que o alto número de folículos antrais está diretamente relacionado a um melhor aproveitamento reprodutivo, maior produção de embriões e maiores taxas de prenhez à IATF, e uma baixa fertilidade é associada com fêmeas de baixa CFA (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2007; 2008; 2009; 2011; MOSSA et al., 2012; EVANS et al., 2012; WALSH et al., 2014; MARTINEZ et al., 2016). Estudos realizados no Brasil com gado *Bos indicus* x *Bos taurus* raça Braford e *Bos indicus* raça nelore revelaram que a população de folículos antrais influencia positivamente a produção de embriões, tanto no método *in vivo* quanto *in vitro* (SILVA-SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2016).

Entretanto, algumas pesquisas relacionadas com a taxa de concepção à IATF de fêmeas *Bos indicus* não relataram influência do número de folículos antrais sobre a taxa de concepção (Rodrigues et al., 2013; Santos et al., 2016). Além disso, para fêmeas *Bos indicus* da raça Nelore, já foi relatada taxa de concepção semelhante entre fêmeas de alta e baixa CFA (MENDONÇA et al., 2013; MORAES, 2016) e taxas superiores para fêmeas *Bos indicus* de baixa CFA (SANTOS et al., 2013; MOROTTI et al., 2018).

Mesmo com os diversos estudos na área de população folicular, as diferenças encontradas com relação ao número de folículos antrais, entre os trabalhos e a sua relação com fertilidade ainda não são totalmente compreendidas. É sabido que fêmeas que apresentam estro tendem a ter um maior folículo dominante à IATF, maior taxa ovulatória, maior tamanho de corpo lúteo (CL), maior concentração de progesterona e maior taxa de prenhez (SÁ FILHO et al., 2013). Assim, a hipótese deste trabalho foi que fêmeas *Bos indicus* de baixa CFA apresentam maior taxa de apresentação de estro e maior taxa de concepção à IATF. Desta forma, o objetivo foi avaliar a taxa de apresentação de estro de fêmeas da raça Nelore com alta, intermediária ou baixa CFA, bem como a taxa de concepção após a realização de protocolo de IATF.

2 Material e Métodos

2.1 Animais e local do experimento

O experimento foi realizado em duas fazendas comerciais localizadas em Jataizinho-PR (Latitude 23°12'05" Sul, longitude 50°55'06" Oeste) que apresenta clima subtropical úmido, com temperaturas variando entre 14°C e 31°C e Ortigueira-PR (Latitude 23°59'44" Sul, longitude 51°06'35"), que também apresenta clima subtropical úmido e temperaturas entre 12°C a 28°C. O estudo ocorreu no início da estação de monta do período de 2016/2017, e o experimento foi conduzido na mesma semana em ambas as propriedades. Foram utilizadas vacas Nelore (*Bos indicus*, n = 271) multíparas, com idade entre 5 a 7 anos, 30 a 60 dias de pós-parto e ECC $3,0 \pm 0,5$ (escala de 1-5; LOWMAN et al., 1976). As fêmeas foram mantidas em pastagens de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens* com livre acesso a água e suplementação mineral.

2.2 Contagem de folículos antrais e protocolo hormonal para a sincronização da ovulação

Previamente ao início do protocolo hormonal (D0 - dia aleatório do ciclo estral), os ovários de cada animal foram avaliados por ultrassonografia (transdutor linear 6 MHz; A5V, Sonoscape, Shenzhen, China) para contagem de folículos antrais, conforme descrito previamente (BURNS et al, 2005, IRELAND et al, 2008, SILVA-SANTOS, 2013). Cada ovário foi avaliado em sua totalidade para contagem de folículos antrais > 3 mm de diâmetro. Assim, a CFA por par de ovários foi determinada para cada animal e as fêmeas foram divididas em três grupos, baseando-se na média ± 1 Desvio Padrão (DP), conforme segue: alta CFA (G-Alta CFA; ≥ 50 folículos, n = 70), intermediária CFA (G- Intermediária CFA; 30-35 folículos, n = 114) ou baixa CFA (G-Baixa CFA; ≤ 25 folículos, n = 87).

Em seguida as vacas receberam um dispositivo intravaginal 1g de progesterona de primeiro uso (P4; Ferticare 1200[®], Vallé, Montes Claros, Brasil) e 2mg de benzoato de estradiol (BE; Ferticare sincronização[®], Vallé) via intramuscular (D0). Na retirada do dispositivo (D8), receberam 500 ug de cloprostenol sódico

para a apresentação dos resultados a análise conjunta dos dados de ambas as fazendas. Para as análises, $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

3 Resultados

Não houve diferença na taxa de apresentação de estro entre os grupos de baixa (69%; 60/87), intermediária (76%; 87/114) e alta CFA (76%; 53/70; $p 0,46$). A taxa de concepção à IATF não diferiu entre os grupos ($p > 0,24$; 44% - 38/87 G-Baixa CFA; 51% - 58/114 G- Intermediária CFA; 57% - 40/70 G-Alta CFA) (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de apresentação de estro e de concepção de vacas com baixa (≤ 25 folículos), intermediária (30- 35 folículos) ou alta (≥ 50 folículos) contagem folicular (CFA), submetidas a protocolo de IATF.

	G- BAIXA CFA (≤ 25 folículos)	G- INTERMEDIÁRIA CFA (30-35 folículos)	G- ALTA CFA (≥ 50 folículos)	Valor de p
N	87	114	70	
ECC	2.97	3.15	3.23	
CFA média	21	31	53	
Taxa de apresentação de estro (%)	69% (60) ^a	76% (87) ^a	76% (53) ^a	0,46
Taxa de concepção (%)	44% (38) ^a	51% (58) ^a	57% (40) ^a	0,24

Na mesma linha, letras diferentes expressam diferença entre os grupos a 5% de significância.

4 Discussão

Ao nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que avalia a taxa de apresentação de estro em fêmeas bovinas com diferentes populações de folículos antrais. O intuito do presente trabalho foi avaliar a taxa de apresentação de estro e concepção após protocolo de sincronização da ovulação entre fêmeas Nelore (*Bos indicus*) com baixa, intermediária ou alta CFA, visto que existem controvérsias entre os resultados de estudos já existentes. Procurou-se verificar se

há relação da apresentação de estro e a CFA de animais *Bos indicus*, devido à conexão entre o estro, a produção de hormônios ovarianos (E2), a taxa de ovulação e a taxa de prenhez.

No presente estudo, a taxa de apresentação de estro média foi de 74% e não houve diferença entre os grupos de alta, intermediária e baixa CFA. A ocorrência de estro após a realização de protocolo de IATF em 540 vacas Nelore foi inferior à relatada no presente estudo (64,3%) e os animais que apresentaram estro apresentaram 3,3 vezes mais chances de se tornarem gestantes do que os que não apresentaram estro (SÁ FILHO et al., 2011). Entretanto, neste estudo não foi avaliada a CFA dos animais.

Os sinais de estro têm sido associados ao pico das concentrações de E2 circulantes (ALLRICH, 1994), excitando regiões específicas do centro comportamental (ROELOFS, 2010). A presença do estro em programas de sincronização da ovulação tem sido estudada em fêmeas taurinas (CERRI et al., 2004; HILEGASS et al., 2008; PERRY; PERRY, 2008) e zebuínas (MENEGETTI et al., 2009; PERES et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2012). É descrito que a presença de maiores folículos no final do protocolo de sincronização está relacionada à maior ocorrência de estro, maior taxa de ovulação e maior chance de prenhez em fêmeas bovinas. Com relação à CFA, já foi relatado maior diâmetro do folículo ovulatório para fêmeas *Bos indicus* x *Bos taurus* com baixa CFA (SANTOS et al., 2012), e, para vacas *Bos indicus* (Nelore) de baixa CFA, um maior folículo dominante e estimado folículo ovulatório (MOROTTI et al., 2018).

Estudos têm relacionado a alta CFA à qualidade oocitária e embrionária e a maiores taxas de prenhez em fêmeas taurinas (IRELAND et al., 2008; MOSSA et al., 2012). Já foi relatado para fêmeas taurinas que apresentam baixa CFA menor capacidade de síntese de progesterona, menor crescimento endometrial (JIMENEZ-KRASSEL et al., 2009), ovários menores (IRELAND et al., 2008), diminuição da produção de progesterona e secreção aumentada de FSH (EVANS et al., 2010, IRELAND et al., 2011).

Ireland et al. (2007), trabalhando com novilhas Holandesas obtiveram número maior de embriões produzidos *in vivo* de animais com alta CFA, e relataram relação positiva entre a produção *in vitro* de embriões e a alta contagem

de folículos antrais, relacionando assim uma maior fertilidade a animais com alta CFA. Mossa et al. (2012) confirmaram tal observação com vacas Holandesas submetidas a programas de inseminação artificial com observação do estro. Entretanto, recentemente, foi relatada menor produtividade e fertilidade para fêmeas Holandesas de alta CFA (JIMENEZ-KRASSEL et al., 2017). Além disso, estudos realizados com fêmeas *Bos indicus* e *Bos indicus* x *Bos taurus* não obtiveram taxa de concepção mais elevada após protocolo de IATF, utilizando animais com alta CFA (MENDONÇA et al.; RODRIGUES et al., 2013; SANTOS et al., 2014; MORAES et al.; MOROTTI et al., 2018). Além disso, Santos et al. (2013) e Morotti et al. (2018) relataram maior taxa de prenhez para animais *Bos indicus* com baixa CFA.

Apesar da CFA ser uma característica de alta repetibilidade nos indivíduos (BURNS et al., 2005; SILVA-SANTOS et al., 2014), nos estudos mencionados acima, cada autor adotou valores diferentes para a categorização dos grupos de alta, intermediária e baixa CFA. No trabalho de Rodrigues et al. (2013) com vacas Nelore, os valores de CFA para definição dos grupos são próximos aos aplicados no presente estudo (baixa: ≤ 32 folículos, intermediária: entre 32 e 48 folículos e alta: ≥ 48 folículos); Moraes et al. (2016) adotaram pontos de corte menores (baixa: ≤ 10 , intermediária: 15 a 25 e alta: ≥ 30). Entretanto, nenhum deles verificou diferença significativa na taxa de concepção entre os grupos. Já Santos et al. (2013), que utilizaram valores de CFA semelhantes aos de Moraes et al. (2016; baixa: ≤ 10 ; intermediária: 11 a 24 e alta: ≥ 25) e Morotti (2018) próximos ao do presente trabalho (baixa: ≤ 15 ; Intermediária: 20 a 40 e alta: ≥ 45), relataram maior taxa de prenhez para vacas com baixa CFA, contrariando os estudos anteriores com vacas *Bos taurus*.

Desta forma, no que diz respeito à taxa de concepção à IATF de fêmeas com diferentes CFA, não existe um consenso entre os autores sobre o comportamento de fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus* e nem mesmo entre fêmeas do mesmo tipo racial. No presente trabalho, avaliou-se pela primeira vez a apresentação de estro de fêmeas *Bos indicus* com diferentes CFA e verificou-se que a mesma não foi influenciada pela CFA. A taxa de concepção à IATF também não diferiu entre animais com baixa, intermediária ou alta CFA.

REFERÊNCIAS

ALLRICH, R.D. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.9, p.2738-2744, 1994.

AYRES, Manuel; AYRES JÚNIOR, Manuel; AYRES, Daniel Lima; SANTOS, Alex Santos dos. **BioEstat 5.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: MCT; IDSM; CNPq, p. 364, 2007.

BARUSELLI et al., The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p 479-486, 2004.

BATISTA, E.O.; MACEDO, G.G.; SALA, R.V.; ORTOLAN, M.D.; SA FILHO, M.F.; DEL VALLE, T.A.; JESUS, E.F.; LOPES, R.N.; RENNÓ, F.P.; BARUSELLI, P.S. Plasma antimüllerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.448- 52, 2014.

BURNS et al, Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. **Biology of Reproduction**, v.73, p.53-62, 2005.

CERRI, R. L. A.; SANTOS, J. E. P.; JUCHEM, S. O.; GALVÃO, K. N.; CHEBEL, R. C. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.11, p.3704-3715, 2004.

EVANS, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2355-2361, 2012.

HANSEN P. Current and future assisted reproductive technologies for mammalian farm animals. In Lamb, G.C.; DiLorenzo, N editors. **Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production**: Springer New York; p.1-22, 2014.

HILLEGASS, J; LIMA, F. S.; SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P. Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 11, p.4226-4237, 2008.

IRELAND et al,. Antral follicle count reliably predicts number of morphological healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of Reproduction**, v.79,p.1219-1225, 2008.

IRELAND et al,. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human Reproduction**, v.22, p.1687-1695, 2007.

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

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

JIMENEZ-KRASSEL, F.; SCHEETZ, M. D.; NEUDER, M. L.; PURSLEY, R. J.; IRELAND, J. J. A single ultrasound determination of ≥ 25 follicles ≥ 3 mm in diameter in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p.4226-4237, 2017.

LAMB et al,. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 181-192, 2010.

LOWMAN, B. G.; SCOTT, N. A.; SOMERVILLE, S. H. **East of Scotland College of Agriculture**. Animal Production A, Department D. Condition Scoring of Cattle: Edinburgh School of Agriculture; 1976.

MARTINEZ, M.F.; SANDERSON, N.; QUIRKE, L.D.; LAWRENCE, S.B.; JUENGEL, J.L. Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. **Theriogenology**, v.85, p.466-75, 2016.

MENDONÇA, H. G. R.; SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS T. R. R.; BLASCHI, W.; MOROTTI, F.; MORAES, F. L. Z.; SENEDA, M. M. Pregnancy rates following FTAI of Nelore heifers (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 452, 2013.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p.179- 189, 2009.

MORAES, F. L. Z.; DINIZ, L. T.; MOROTTI, F.; SILVA, C. B.; ROSA, C. O.; SENEDA, M. M. Influência da contagem de folículos antrais na taxa de concepção de vacas inseminadas em tempo fixo. **Anais do I Congresso de Pesquisa em Saúde Animal e Humana**. Londrina-PR, p. 311-313, 2016.

MOROTTI, F.; BARREIROS, T. R. R.; MACHADO, F. Z.; GONZÁLEZ, S. M.; MARINHO, L. S. R.; SENEDA, M. M. Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? **Animal Reproduction**, v. 12, p. 479-486, Jul./Sept. 2015.

MOROTTI, F.; MORETTI, R.; SANTOS, G M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; RAMOS CERQUEIRA, P. H.; SENEDA, M. M, ovarian follicular dynamics and conception rate in *bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. . **Animal Reproduction Science**. p. 170-177. 2018

MOSSA,F.;WALSH,S.W.; BUTLER, S.T.; BERR, D.P.;CARTER,F.;LONERGAN,P.; SAMITH,G.W.; IRELAND,J.J.; EVANS, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles \geq 3mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2355-2361, 2012.

PERES, R. F. G.; JÚNIOR, I. C.; FILHO, O. G. S.; NOGUEIRA. G. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 72, n. 5, p. 681-689, 2009.

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effects of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, n. 3, p.333-338, 2008.

RICO, C.; DROUILHET, L.; SALVETTI, P.; DALBIÈS-TRAN, R.; JARRIER, P.; TOUZÉ, J-L.; PILLET, E.; PONSART, C.; FABRE, S.; MONNIAUX, D. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 932-944. 2012.

RODRIGUES, A. S.; OLIVEIRA, S. N.; FERRAZ, P. A.; LOIOLA, M. V. G.; COUTINHO, T. P.; SANTOS, M. M.; CHALHOULB, M. Antral follicle counts in Nelore females with different reproductive parameters and body condition score. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 395, 2013.

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATITUS, F.; HUNTER, R. H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; HANEN, C. When is cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v. 74, n. 3, p. 327-344, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos Indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 455-463, 2011.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; SOUZA REIS, T.; GALVÃO, K. N.; BARUSELLI, P. S. Timed artificial insemination earlier during the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v.79. p.625-32, 2012

SANTOS, G.M.G. S; SANTOS, K.C.S; SILOTO, L.S; MOROTTI, F; MARCANTONIO, T.N ; THASMO, R.L.O ; KOETZ JR, C ; LIMA, D.C.M ; BELOTTO, A.F ; MARINHO, L.S.R ; SENEDA, M.M . Dinâmica folicular em fêmeas bovinas de alta, média e baixa contagem de folículos antrais: Resultados preliminares. **Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, Foz do Iguaçu, p. 336, 2012.

SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; MOROTTI, F.; SANCHES, B. V.; MORAES, F. L. Z.; BLASCHI, W.; SENEDA, M. M. High numbers of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 165, p. 17-21, 2016.

SANTOS, G. M. G.; SILVA-SANTOS, K. C.; BARREIROS, T. R. R.; BLASCHI, W.; MOROTTI, F.; SILVA, C. B.; MORAES, F. L. Z.; GIUDICISSI, D. P. L.; SENEDA, M. M. Conception rates following FTAI of Nelore cows (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v. 10, p.451. 2013.

SILVA-SANTOS, K. C., MARINHO, L. S. R., SANTOS, G. M. G., MACHADO, F. Z., GONZALEZ, S. M., LISBOA, L. A., E SENEDA, M. M. . Ovarian follicle reserve: emerging concepts and applications. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 180-186, 2013.

SILVA-SANTOS, K.C.; SANTOS, G.M.G.; KOETZ JÚNIOR, C.; MOROTTI, F.; SILOTO, L.S.; MARCANTONIO, T.N.; URBANO, M.R.; OLIVEIRA, R.L.; LIMA, D.C.M.; SENEDA, M.M. Antral Follicle Populations and Embryo Production – *In Vitro* and *In Vivo* – of *Bos indicus*–*taurus* Donors from Weaning to Yearling Ages. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.228-32, 2014.

WALSH, S. W.; MOSSA, F.; BUTLER, S. T.; BERRY, D. P.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J. J. Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral follicle count in cattle. **Journal of dairy science**, v. 97, p. 4503 4511, 2014.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que:

- Vacas Nelore (*Bos indicus*) com alta, intermediária ou baixa CFA submetidas à protocolo de sincronização da ovulação não apresentaram diferença quanto à taxa de apresentação de estro durante protocolo para sincronização da ovulação;
- Não houve diferença entre a taxa de concepção à IATF de vacas Nelore (*Bos indicus*) com alta, intermediária ou baixa CFA.