

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

POPULAÇÃO FOLICULAR ANTRAL OVARIANA EM
VACAS E BEZERRAS DAS RAÇAS NELORE E
GIROLANDO

Acadêmico: Jair Sábio de Oliveira Júnior

Aquidauana – MS
Fevereiro / 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

POPULAÇÃO FOLICULAR ANTRAL OVARIANA EM
VACAS E BEZERRAS DAS RAÇAS NELORE E
GIROLANDO

Acadêmico: Jair Sábio de Oliveira Júnior
Orientadora: Dra. Fabiana de Andrade Melo Sterza

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado – Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”.

Aquidauana – MS
Fevereiro / 2014

O47p Oliveira Júnior, Jair Sábio de

População folicular antral ovariana em vacas e bezerras das raças Nelore e Girolando / Jair Sábio de Oliveira Júnior.

Aquidauana, MS: UEMS, 2014.

28p.; 30cm.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2014.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fabiana de Andrade Melo Sterza.

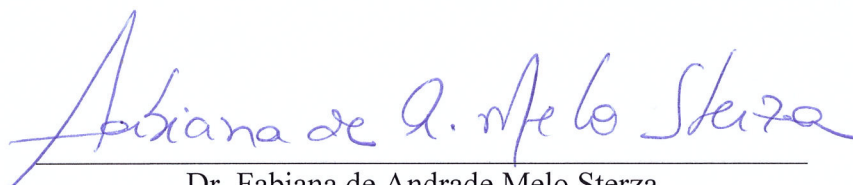
1.Folículos antrais 2. Ultrassonografia 3. Bovinos I. Título.

CDD 20.ed.636.082

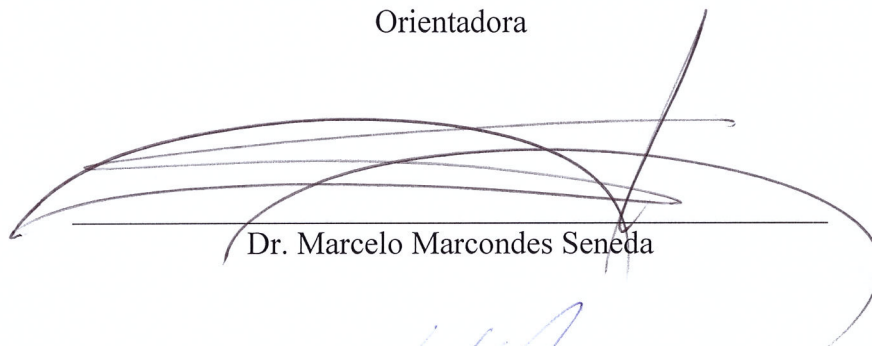
JAIR SÁBIO DE OLIVEIRA JÚNIOR

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

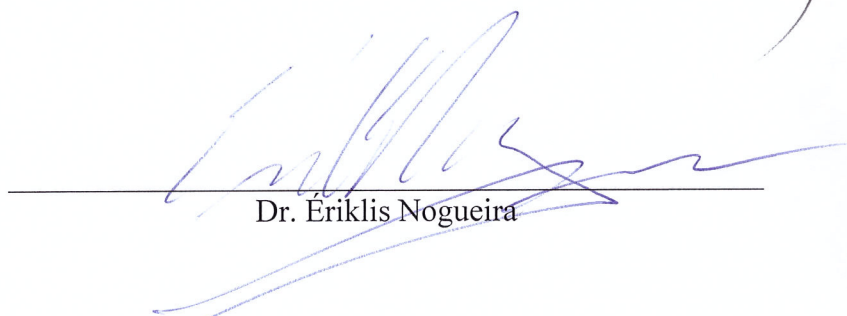
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/02/2014.



Dr. Fabiana de Andrade Melo Sterza
Orientadora



Dr. Marcelo Marcondes Seneda



Dr. Érikliis Nogueira

AOS MEUS PAIS, JAIR E CECÍLIA

*PELO AMOR, APOIO E PRINCIPALMENTE PELA EDUCAÇÃO E
EXEMPLO DE FAMÍLIA QUE SEMPRE ME DERAM,
FUNDAMENTAIS PARA A FORMAÇÃO DO MEU CARÁTER E
PARA O ALCANCE DAS MINHAS CONQUISTAS, QUE TAMBÉM
SÃO SUAS, DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar a vida como ela é, e com ela todas as experiências pelas quais passei.

Aos meus pais, Jair e Cecília, que estiveram ao meu lado, em todos os momentos da minha vida, mesmo estando fisicamente distantes em boa parte deles.

À minha família, Evelyn e Julia, por entenderem minhas ausências e me amarem incondicionalmente.

À minha grande amiga e orientadora, Fabiana, pelas oportunidades e toda ajuda que me deu.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), por ceder sua estrutura para a realização deste trabalho.

Aos amigos, Marcus Vinicius e André Rozemberg, pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade que construímos.

Ao produtor rural, Waldemir Mambula e sua esposa, Vilma, por sempre me receber bem em sua casa e colocar à minha disposição, sua propriedade, também fundamental para o desenvolvimento deste projeto.

Aos amigos, companheiros do Grupo de Estudos em Tecnologias da Reprodução Animal (GENTRA), André, Carol, Christopher, Elielton, Gislaine, Henrique, Jessica, Jonathan, Mariane, Mirela, Priscila, Valdir e Wilian, e também ao Nikolas, por toda ajuda e bons momentos de convivência que tivemos durante minha passagem por Aquidauana.

Ao Programa Rio de Leite e todos os seus participantes pela troca de experiências que me proporcionaram crescimento pessoal e profissional, aplicados neste projeto.

Aos colaboradores Aya Sasa, Erikliis Nogueira e Marcelo Seneda, pela valorosa contribuição na conclusão deste trabalho.

À coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana, Lilian Hayd, por todo auxílio e compreensão durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro concedido.

Aos amigos de trabalho no campo, Evandro, Marcel, Gilmar e Fermiano, que muito colaboraram na realização dos experimentos.

À todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram nesta etapa da vida.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
1 CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1.1 Introdução.....	1
1.1.1 Hipótese	2
1.1.2 Objetivo Geral.....	2
1.1.3 Objetivos Específicos	2
1.2 Revisão de Literatura.....	2
1.2.1 Fisiologia da Reprodução em Bovinos	3
1.2.2 Diferenças do Ciclo Estral em Taurinos e Zebuínos.....	4
1.2.3 População Folicular Antral Ovariana	5
1.3 Referências.....	8
2 CAPÍTULO 2 – Artigo Científico (Theriogenology).....	16
RESUMO	16
ABSTRACT	17
Introdução	18
Material e Métodos.....	19
Animais	19
Protocolo Experimental.....	20
Análise Estatística.....	21

Resultados	21
Discussão.....	23
Conclusão	24
Referências	25
3 CAPÍTULO 3 – Considerações Finais	28

RESUMO

Este estudo objetivou avaliar a população folicular antral ovariana (PFAO) de bezerras e vacas das raças Nelore e Girolando, entre 12 e 60 meses de idade. Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) vacas Nelore (n=18); 2) vacas Girolando (n=20); 3) novilhas Nelore (n=7) e; 4) novilhas Girolando (n=7). Nos grupos das vacas, os animais receberam um dispositivo intravaginal com 1.9 g de progesterona, 2 mg de benzoato de estradiol IM e 25 mg de dinoprost IM, em um dia aleatório do ciclo estral (D0). No D7 o dispositivo de progesterona foi retirado. Os animais foram submetidos à ultrassonografia ovariana transvaginal para contagem da PFAO no D11. Foram contados todos os folículos ≥ 3 mm de diâmetro em ambos os ovários. O procedimento de contagem da PFAO foi repetido três vezes, com intervalos de 35 dias entre as repetições. Para os grupos de novilhas foram adotados os mesmos procedimentos descritos acima, porém estes animais não receberam o tratamento de sincronização da emergência da onda folicular. Para avaliação da PFAO entre as contagens e da média das contagens entre as raças e os grupos, foi realizada análise de variância (ANOVA) e correlação de Pearson, através do programa SAS, utilizando o Proc GLIMMIX, seguida de Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não foi observada diferença significativa ($p>0.05$) entre as médias das contagens da PFAO de vacas Nelore e Girolando (30.9 e 26.7, respectivamente) e das novilhas Nelore e Girolando (16.2 e 18.1, respectivamente). Porém, diferença significativa ($p<0.05$) entre as categorias de novilhas e vacas da raça Nelore (16.2 e 30.9, respectivamente) e Girolando (18.1 e 26.7, respectivamente) foi observada entre as médias das contagens da PFAO. Com base nestes dados, conclui-se que a PFAO em fêmeas bovinas das raças Nelore e Girolando é semelhante e influenciada pela idade. Além disso foi possível concluir que a avaliação de um único ovário é suficiente para estimar a PFAO do indivíduo.

Palavras-chave: Folículos antrais, ultrassonografia, bovinos.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the ovarian antral follicular population (PFAO) of heifers and cows from Nelore and Girolando breeds, between 12 and 60 months old. The animals were divided into four groups: 1) Nelore cows (n=18); 2) Girolando cows (n=20); 3) Nelore heifers (n=7) and; 4) Girolando heifers (n=7). In the group of cows, the animals received an intravaginal device with 1.9 g of progesterone, 2 mg of estradiol benzoate IM and 25 mg of dinoprost IM, in a random day of the estrous cycle (D0). The progesterone device was removed on D7 and the animals underwent transvaginal ovarian ultrasound to count PFAO on D11. All follicles ≥ 3 mm in diameter in both ovaries were counted. The counting procedure of PFAO was repeated three times at intervals of 35 days between repetitions. In the group of heifers the same procedure described above was carried out, but these animals did not receive treatment for synchronization of follicular wave emergence. To evaluate the PFAO among counts and average counts between breeds and groups, analysis of variance (ANOVA) and Pearson's correlation was performed, through the SAS program, using Proc GLIMMIX, followed by Tukey Test at 5% probability. No significant difference between PFAO of Nelore and Girolando (30.9 and 26.7, respectively) cows was observed. The same result was observed between PFAO of Nelore and Girolando (16.2 and 18.1, respectively) heifers. However, a significant difference of PFAO between heifers and cows of Nelore (16.2 and 30.9, respectively) and Girolando (18.1 and 26.7, respectively) breed was observed. Based on these data, it is concluded that in bovine females PFAO of Nelore and Girolando breeds is similar and influenced by age. Furthermore the evaluation of a single ovary is sufficient to estimate PFAO of an individual.

Keywords: Antral follicles, ultrasonography, bovine.

1 CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1.1 Introdução

O setor pecuário brasileiro representa 6,48% do PIB nacional (Cepea-Esalq/Usp, 2012). O Brasil é um país tropical que possui grande extensão territorial e condições climáticas ideais para criação de bovinos, dando a este setor, alto potencial de crescimento.

A raça Girolando é uma raça híbrida que tem origem no cruzamento das raças Gir e Holandês. Esta raça demonstra a alta rusticidade do *Bos taurus indicus* associada à alta produtividade do *Bos taurus taurus*, e teve seu reconhecimento como raça oficial, pelo Ministério da Agricultura Brasileiro, em 1996, o que explica o fato da existência de pouca literatura sobre o comportamento fisiológico reprodutivo desta raça (Santos Filho *et al.*, 2001).

É expressivo o número de estudos que objetivam melhorar a eficiência na produção de bovinos, principalmente os relacionados a desenvolver e ou aprimorar biotécnicas que visam aumentar os índices reprodutivos nesta espécie.

Nas últimas cinco décadas, a relação negativa entre alta produção e fertilidade vem sendo observada especialmente em bovinos leiteiros (Sartori *et al.*, 2010; Walsh *et al.*, 2011). Nesse sentido, novos estudos são constantemente realizados na tentativa de entender e mudar esse cenário. Uma baixa população de folículos ovarianos antrais em bovinos de leite tem sido associada com algumas características de baixa fertilidade, como ovários menores, menor número de folículos e oócitos nos ovários (Ireland *et al.*, 2008), menor taxa de prenhez no final da estação de monta (Mossa *et al.*, 2012), reduzida capacidade de resposta a superovulação (Singh *et al.*, 2004; Ireland *et al.*, 2007), concentrações inferiores de progesterona e hormônio anti-mülleriano (AMH) (Ireland *et al.*, 2008; Jimenez-Krassel *et al.*, 2009) e redução da espessura endometrial do dia 0 ao dia 6 do ciclo estral (Jimenez-Krassel *et al.*, 2009). Assim, o potencial reprodutivo em animais de produção tem sido relacionado com a população folicular antral ovariana (PFAO) (Ireland *et al.*, 2008; Evans *et al.*, 2010; Ireland *et al.*, 2011; Mossa *et al.*, 2012), sendo este

parâmetro, considerado como mais uma ferramenta de auxílio na seleção de animais.

A seleção de animais de eficiência reprodutiva superior, por metodologia acessível e confiável, pode contribuir ainda mais para melhorar a produtividade do rebanho bovino.

Muitos são os dados encontrados na literatura sobre animais *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, porém pouco se conhece sobre animais mestiços. Os dados produzidos neste trabalho vêm complementar as informações publicadas sobre as raças puras.

1.1.1 Hipótese

Existe semelhança entre a PFAO de animais da raça Nelore e Girolando, e esta característica está relacionada à idade, nestas raças.

Apenas a avaliação de um ovário é suficiente para determinar a população folicular antral ovariana de um indivíduo.

1.1.2 Objetivo Geral

Estudar a população folicular antral ovariana de animais jovens e adultos das raças Nelore e Girolando.

1.1.3 Objetivos Específicos

Avaliar a população folicular antral ovariana, considerando os efeitos raça e idade entre fêmeas bovinas das raças Nelore e Girolando, por ultrassonografia transvaginal.

Observar o comportamento da população folicular antral ovariana em ambos os ovários de forma independente, em fêmeas das raças Nelore e Girolando.

1.2 Revisão de Literatura

1.2.1 Fisiologia da Reprodução em Bovinos

O ovário é um órgão dinâmico constituído por células do estroma, do epitélio superficial e milhares de folículos, compondo as unidades básicas estruturais e funcionais ovarianas, que fornecem as condições adequadas para o desenvolvimento e a maturação oocitária (Cortvrindt e Smitz, 2001).

A fêmea bovina tem em seus ovários, ao nascimento, em torno de 150.000 folículos primordiais (14.000 a 250.000) (Erickson, 1966). À puberdade este número diminui ficando entre 12.000 e 86.000, e destes, somente 0,01% chegam à ovulação durante o período de vida fértil, enquanto o restante sofre atresia (Campbell *et al.*, 1995).

A foliculogênese é um processo que se inicia com a formação do folículo primordial e chega ao seu estágio máximo com a ovulação do folículo maduro, também chamado de pré-ovulatório (Figueiredo *et al.*, 2002).

Os folículos são constituídos por um oócito circundado por células do cumulus, da granulosa, murais e da teca. De acordo com o estágio de desenvolvimento, eles são divididos em pré-antrais, que incluem os folículos primordiais, primários e secundários, e antrais que compreendem os folículos terciários e pré-ovulatórios (Figueiredo *et al.*, 2002). O número de folículos em fase antral em um determinado momento do ciclo estral, depende da taxa de mobilização da reserva de folículos primordiais e, posteriormente, diferente do estágio pré-antral, do suporte proporcionado por fatores de crescimento e gonadotrofinas hipofisárias (Crowe, 1999). Em várias espécies domésticas, os folículos antrais são recrutados e crescem simultaneamente em uma onda folicular sob o controle das gonadotrofinas (Fortune, 1994).

O desenvolvimento folicular segue um padrão de ondas de crescimento descoberto com o advento da ultrassonografia (Ginther, Knopf, *et al.*, 1989b). As ondas de desenvolvimento folicular não são eventos exclusivos de fêmeas que alcançaram a maturidade sexual, estando presentes também antes da puberdade (Evans *et al.*, 1994) e durante a gestação (Ginther, Knopf, *et al.*, 1989a).

Assim, o crescimento folicular se caracteriza pela presença de uma, duas, três ou até quatro ondas de desenvolvimento por ciclo estral (Baruselli *et al.*, 2007). Durante a avaliação ultrassonográfica de fêmeas bovinas cíclicas, foi

demonstrado que a maioria dos ciclos estrais são constituídos por duas a três ondas foliculares, entretanto, esta característica pode variar de acordo com a raça e estado fisiológico (Ginther, Knopf, *et al.*, 1989b). O mesmo foi demonstrado em fêmeas *Bos taurus indicus* (Figueiredo *et al.*, 1997) de forma semelhante ao relatado em *Bos taurus taurus* (Sartori e Barros, 2011). Outros estudos apontaram que o espaço interovulatório médio é menor em animais Nelore de duas ondas (20,7 dias) quando comparados com animais de três ondas (22 dias) e que as ondas diferem quanto ao seu comprimento (Figueiredo *et al.*, 1997). A onda folicular é caracterizada com o desenvolvimento de três fases: recrutamento, seleção e dominância, chegando até o destino final do folículo dominante: atresia ou ovulação (Espinoza-Villavicencio *et al.*, 2007).

Existe grande variabilidade individual quanto ao número de folículos e oócitos pré-antrais nos ovários de fêmeas bovinas, e isto está fortemente relacionado à raça e ou subespécie, principalmente quando se compara *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* (Silva-Santos, K. C. *et al.*, 2013).

1.2.2 Diferenças do Ciclo Estral em Taurinos e Zebuínos

De forma natural, na puberdade as fêmeas bovinas iniciam o período de ciclicidade, que vai ocorrer por grande parte da vida produtiva (Diskin *et al.*, 2003). Os ciclos de função ovariana apresentam uma série de eventos no período que vai de um estro ao outro subsequente e se caracterizam pelo crescimento e regressão de folículos e corpos lúteos, durando 21 dias, em média (Sartori *et al.*, 2011).

Vários autores verificaram diferenças entre *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, quanto aos eventos ocorridos durante o ciclo estral. O número de pequenos folículos registrados durante o surgimento da primeira onda de desenvolvimento folicular pós estro, foi superior em animais *Bos taurus indicus* em relação à animais *Bos taurus taurus* (Segerson *et al.*, 1984; Ginther *et al.*, 1996; Alvarez *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2008). Já o folículo dominante parece ter maior diâmetro máximo em animais *Bos taurus taurus* (12 a 22 mm) quando comparado com animais *Bos taurus indicus* (10 a 12 mm) (Savio *et al.*, 1988; Ginther, Kastelic, *et al.*, 1989; Sartori *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2008).

Outra diferença observada foi menor taxa de crescimento dos folículos ovulatórios e subordinados em Nelore (0,9 mm/d) (Figueiredo *et al.*, 1997; Carvalho *et al.*, 2008) que em raças europeias (1,1 a 2,0 mm/d) (Sirois e Fortune, 1988; Knopf *et al.*, 1989; Sartori *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2008).

Na divergência folicular, fêmeas taurinas apresentaram diâmetro do maior folículo em desenvolvimento, superior (8,5 a 9,0 mm) (Ginther *et al.*, 1996; Sartori *et al.*, 2001) em relação à fêmeas zebuínas (7,5 a 8,0 mm) (Sartorelli *et al.*, 2005; Castilho *et al.*, 2007; Gimenes *et al.*, 2008).

A duração do período de estro em taurinos foi maior (30 min a 27 h) (Lopez *et al.*, 2004) que em zebuínos (1 a 20 h) (Bo *et al.*, 2003). Estes dados foram confirmados em outro estudo que também observou uma maior incidência de estros noturnos em animais *Bos taurus indicus* (Pinheiro *et al.*, 1998).

1.2.3 População Folicular Antral Ovariana

Durante muitos anos, acreditou-se que a emergência da onda folicular era marcada pelo crescimento de um número constante entre 23 a 25 folículos antrais (Ginther *et al.*, 1996), no entanto, com a evolução do emprego da ultrassonografia na avaliação da dinâmica folicular ovariana, verificou-se que animais *Bos taurus indicus*, particularmente da raça Nelore, apresentam uma superioridade numérica em relação aos *Bos taurus taurus*, recrutando cerca de 30 a 50 folículos por onda (Sartori *et al.*, 2011; Loureiro *et al.*, 2012).

Estudos têm demonstrado que o número de folículos antrais presentes no momento da emergência é uma característica que apresenta alta variabilidade individual (Ireland *et al.*, 2007). Este parâmetro foi mensurado em fêmeas taurinas (Burns *et al.*, 2005), constatando uma oscilação entre 8 e 54 folículos nos diferentes indivíduos. Por outro lado, a quantidade de folículos recrutados se repete constantemente nos animais entre consecutivas ondas. Estes achados têm revolucionado as emergentes frentes de pesquisa, gerando consequências importantes na aplicação das mais diversas biotecnologias assistidas (Sartori *et al.*, 2011). Segundo pesquisa recente, a quantidade de folículos ovarianos é muito variável ao longo da vida reprodutiva de bovinos, e

há evidências de que vacas com contagem de folículos antrais relativamente baixa têm inúmeras características fenotípicas associadas à infertilidade (Ireland *et al.*, 2011). A contagem de folículos antrais é associada positivamente com a quantidade total de folículos ovarianos de animais adultos, sendo que vacas com um baixo número médio de folículos antrais geralmente respondem mal à superovulação (Evans *et al.*, 2010; Ireland *et al.*, 2011).

A fertilidade pode ser comprometida em animais com baixa PFAO em comparação com animais com alta PFAO. Vacas leiteiras no pós-parto foram avaliadas e descobriu-se que as vacas com alta PFAO tiveram maiores taxas de prenhez, intervalo parto-concepção mais curto e receberam menos serviços durante a estação de monta em comparação com vacas com baixa PFAO (Evans *et al.*, 2010). As concentrações de andrógenos circulantes estão associadas à função e crescimento folicular e também à disfunção dos ovários. Menores concentrações de andrógenos foram encontradas em animais de baixa PFAO quando comparados com animais de alta PFAO (Mossa *et al.*, 2010).

O número de folículos antrais é facilmente determinado por avaliação ultrassonográfica e tem variabilidade entre os ciclos (Hansen *et al.*, 2003). Neste sentido a contagem dos folículos antrais demonstrou ser um bom preditor da resposta ovariana durante a estimulação hormonal para a fertilização *in vitro* (Bancsi *et al.*, 2002). Práticas como a PIVE têm incorporado contagem de folículos antrais na avaliação da fertilidade (Hansen *et al.*, 2003).

Grande variabilidade individual tem sido relatada no que se refere à PFAO (Silva-Santos, K. *et al.*, 2013). Em estudo recente foi possível dividir doadoras da raça Nelore em 4 grupos de acordo com a produção de oócitos: fêmeas de produção de oócitos muito alta (≥ 58), fêmeas de produção alta (≥ 32), fêmeas de produção média (≥ 22) e fêmeas de produção baixa (≤ 10). Foi demonstrado que os animais com maior produção de oócitos apresentaram também diferença significativa na produção de embriões viáveis e taxa de prenhez aos 30 dias (Pontes *et al.*, 2011).

Há relatos da diferença existente entre a produção de oócitos após a aspiração folicular por ultrassonografia (OPU) entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*. Após avaliar mais de 90.000 oócitos aspirados, pesquisadores

relataram a produção média de 11 oócitos por doadora da raça Holandesa, 17 oócitos por doadora da raça Gir e 31 por doadora da raça Girolando ($\frac{1}{2}$ Holandês x $\frac{1}{2}$ Gir), indicando a possibilidade de haver um efeito positivo da heterose racial sobre a produção de oócitos (Pontes *et al.*, 2010). Foi relatado, em média, 33 folículos recrutados por doadora da raça Nelore, 29 por doadora Brangus ($\frac{1}{2}$ Nelore x $\frac{1}{2}$ Angus) e 25 por doadora da raça Angus (Carvalho *et al.*, 2008). Esses dados mostram uma clara diferença entre raças no que diz respeito ao número de folículos e oócitos.

Foi testada a hipótese de que população folicular antral ovariana em bovinos de corte é associada positivamente com o número de oócitos e folículos morfologicamente saudáveis nos ovários e com a concentração plasmática do AMH, um marcador indireto para o número de folículos saudáveis e ovócitos nos ovários (Ireland *et al.*, 2008). Neste estudo, fêmeas com idade entre 12 e 18 meses foram submetidas a ultrassonografia para identificar os animais com alta (>25 folículos maiores que 3 mm de diâmetro) ou baixa (<15 folículos maiores que 3 mm de diâmetro) população folicular antral ovariana, durante ondas foliculares seriadas. As classificações fenotípicas dos animais com base tanto na PFAO durante ondas foliculares como nas concentrações do AMH permitiram prever com segurança o número relativo de folículos e ovócitos morfologicamente viáveis e o potencial de longevidade reprodutiva em bovinos adultos jovens (12 a 18 meses).

Pesquisadores relacionaram o peso do ovário com o potencial do mesmo em produzir folículos. A pesquisa demonstrou que o peso do ovário também é influenciado pelo número de folículos pequenos e não apenas pelo corpo lúteo e folículos pré-ovulatórios. Esse grupo demonstrou que é possível estimar a população folicular de novilhas através do peso do ovário contralateral ao do corpo lúteo (Murasawa *et al.*, 2005).

Considerando todas as informações acima apresentadas, fica claro que a população folicular, por meio da seleção de doadoras, representa mais uma excelente ferramenta para otimizar os resultados das biotécnicas da reprodução disponíveis no mercado.

1.3 Referências

ALVAREZ, P.; SPICER, L. J.; CHASE, C. C., JR.; PAYTON, M. E.; HAMILTON, T. D.; STEWART, R. E.; HAMMOND, A. C.; OLSON, T. A.; WETTEMANN, R. P. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **J Anim Sci**, v. 78, n. 5, p. 1291-302, May 2000.

BANCSI, L. F.; BROEKMANS, F. J.; EIJKEMANS, M. J.; DE JONG, F. H.; HABBEMA, J. D.; TE VELDE, E. R. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. **Fertil Steril**, v. 77, n. 2, p. 328-36, Feb 2002.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 31, p. 205-11, Abril/Junho 2007.

BO, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 78, n. 3-4, p. 307-26, Oct 15 2003.

BURNS, D. S.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J. L.; KNIGHT, P. G.; IRELAND, J. J. 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. **Biol Reprod**, v. 73, n. 1, p. 54-62, Jul 2005.

CAMPBELL, B. K.; SCARAMUZZI, R. J.; WEBB, R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. **J Reprod Fertil Suppl**, v. 49, p. 335-50, 1995.

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

Theriogenology, v. 69, n. 2, p. 167-75, Jan 15 2008.

CASTILHO, C.; GARCIA, J. M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G. P.; BRITO, L. F. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Anim Reprod Sci**, v. 98, n. 3-4, p. 189-96, Apr 2007.

CEPEA-ESALQ/USP. **PIB do Agronegócio - Dados de 1994 a 2012**. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/USP - <http://cepea.esalq.usp.br/pib/>, 2012.

CORTVRINDT, R.; SMITZ, J. In vitro follicle growth: achievements in mammalian species. **Reprod Domest Anim**, v. 36, n. 1, p. 3-9, Feb 2001.

CROWE, M. A. Gonadotrophic control of terminal follicular growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n. 3, p. 157-166, 1999.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; SREENAN, J. M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 78, n. 3-4, p. 345-70, Oct 15 2003.

ERICKSON, B. H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **J Anim Sci**, v. 25, n. 3, p. 800-5, Aug 1966.

ESPINOZA-VILLAVICENCIO, J. L.; PÉREZ, R. O.; ESPINOSA, A. P.; MÉNDEZ, J. V.; FLORES, C. F. A. Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: una revisión. **Interciência**, v. 32, p. 93-9, 2007.

EVANS, A. C.; ADAMS, G. P.; RAWLINGS, N. C. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. **J Reprod Fertil**, v. 102, n. 2, p. 463-70, Nov 1994.

EVANS, A. C.; MOSSA, F.; FAIR, T.; LONERGAN, P.; BUTLER, S. T.; ZIELAK-STECIWKO, A. E.; SMITH, G. W.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J. K.;

IRELAND, J. L.; IRELAND, J. J. Causes and consequences of the variation in the number of ovarian follicles in cattle. **Soc Reprod Fertil Suppl**, v. 67, p. 421-9, 2010.

FIGUEIREDO, J. R.; RODRIGUES, A. P. R.; AMORIM, C. A. Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais - MOIFOPA. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R., *et al* (Ed.). **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo, SP: Varela, 2002. p.227-60.

FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1489-505, Jun 1997.

FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biol Reprod**, v. 50, n. 2, p. 225-32, Feb 1994.

GIMENES, L. U.; SA FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A.; TORRES-JUNIOR, J. R.; SOUZA, A. H.; MADUREIRA, E. H.; TRINCA, L. A.; SARTORELLI, E. S.; BARROS, C. M.; CARVALHO, J. B.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852-8, Apr 15 2008.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOPF, L. Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 32, n. 5, p. 787-95, Nov 1989.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. **Biol Reprod**, v. 41, n. 2, p. 247-54, Aug 1989a.

_____. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **J Reprod Fertil**, v. 87, n. 1, p. 223-30, Sep 1989b.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K.

Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol Reprod**, v. 55, n. 6, p. 1187-94, Dec 1996.

HANSEN, K. R.; MORRIS, J. L.; THYER, A. C.; SOULES, M. R. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. **Fertil Steril**, v. 80, n. 3, p. 577-83, Sep 2003.

IRELAND, J. J.; SMITH, G. W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J. K.; IRELAND, J. L.; MOSSA, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. 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-Mullerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. **Reprod Fertil Dev**, v. 23, n. 1, p. 1-14, 2011.

IRELAND, J. J.; WARD, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J. L.; SMITH, G. W.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. 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. **Hum Reprod**, v. 22, n. 6, p. 1687-95, Jun 2007.

IRELAND, J. L.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMMEN, A. P.; WARD, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G. W.; PEREZ, G. I.; EVANS, A. C.; IRELAND, J. J. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biol Reprod**, v. 79, n. 6, p. 1219-25, Dec 2008.

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 estrous cycles in cattle. **Biol Reprod**, v. 80, n. 6, p. 1272-81, Jun 2009.

KNOPF, L.; KASTELIC, J. P.; SCHALLENBERGER, E.; GINTHER, O. J. Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by

ultrasonically monitoring individual follicles. **Domest Anim Endocrinol**, v. 6, n. 2, p. 111-9, Apr 1989.

LOPEZ, H.; SATTER, L. D.; WILTBANK, M. C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Anim Reprod Sci**, v. 81, n. 3-4, p. 209-23, Apr 2004.

LOUREIRO, B.; ERENO, R. L.; FAVORETO, M. G.; PUPULIM, A. G.; FONTES, P. K.; TICIANELLI, J. S.; PINTO, R. F. P.; CASTILHO, A. C. S.; BARROS, C. M. Expression of androgen producing enzymes in low and high follicle count Nelore cows. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 458, Jul./Sept. 2012.

MOSSA, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J. K.; IRELAND, J. L.; SMITH, G. W.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C.; IRELAND, J. J. Evidence that high variation in antral follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen production in cattle. **Reproduction**, v. 140, n. 5, p. 713-20, Nov 2010.

MOSSA, F.; WALSH, S. W.; BUTLER, S. T.; BERRY, D. P.; CARTER, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G. W.; IRELAND, J. J.; EVANS, A. C. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 95, n. 5, p. 2355-61, May 2012.

MURASAWA, M.; TAKAHASHI, T.; NISHIMOTO, H.; YAMAMOTO, S.; HAMANO, S.; TETSUKA, M. Relationship between ovarian weight and follicular population in heifers. **J Reprod Dev**, v. 51, n. 5, p. 689-93, Oct 2005.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; DO VALLE, E. R.; ENCARNACAO, 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 F2 alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, n. 3, p. 667-81, Feb 1998.

PONTES, J. H.; MELO STERZA, F. A.; BASSO, A. C.; FERREIRA, C. R.;

SANCHES, B. V.; RUBIN, K. C.; 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, n. 9, p. 1640-6, Jun 2011.

PONTES, J. H.; SILVA, K. C.; BASSO, A. C.; RIGO, A. G.; FERREIRA, C. R.; SANTOS, G. M.; SANCHES, B. V.; PORCIONATO, J. P.; VIEIRA, P. H.; FAIFER, F. S.; STERZA, F. A.; SCHENK, J. L.; SENEDA, M. M. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and indicus-taurus dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 74, n. 8, p. 1349-55, Nov 2010.

SANTOS FILHO, A.; OLIVEIRA, M. A.; CALDAS, J. G.; LIMA, P. F.; DONATO, I. V. Ovarian follicular dynamics of five-eighths Girolando cows. **Reprod Domest Anim**, v. 36, n. 3-4, p. 207-10, Aug 2001.

SARTORELLI, E. S.; CARVALHO, L. M.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.; BARROS, C. M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v. 63, n. 9, p. 2382-94, Jun 2005.

SARTORI, R.; BARROS, C. M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 124, n. 3-4, p. 244-50, Apr 2011.

SARTORI, R.; BASTOS, M. R.; WILTBANK, M. C. Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. **Reprod Fertil Dev**, v. 22, n. 1, p. 151-8, 2010.

SARTORI, R.; FRICKE, P. M.; FERREIRA, J. C.; GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biol Reprod**, v. 65, n. 5, p. 1403-9, Nov 2001.

SARTORI, R.; GUMEN, A.; GUENTHER, J. N.; SOUZA, A. H.; CARAVIELLO, D. Z.; WILTBANK, M. C. Comparison of artificial insemination versus embryo

transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, n. 7, p. 1311-21, Apr 15 2006.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R. D.; ROSA, G. J.; WILTBANK, M. C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. **J Dairy Sci**, v. 87, n. 4, p. 905-20, Apr 2004.

SAVIO, J. D.; KEENAN, L.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. **J Reprod Fertil**, v. 83, n. 2, p. 663-71, Jul 1988.

SEGERSON, E. C.; HANSEN, T. R.; LIBBY, D. W.; RANDEL, R. D.; GETZ, W. R. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. **J Anim Sci**, v. 59, n. 4, p. 1026-46, Oct 1984.

SILVA-SANTOS, K.; SILOTO, L.; SANTOS, G.; MOROTTI, F.; MARCANTONIO, T.; SENEDA, M. Comparison of Antral and Preantral Ovarian Follicle Populations Between Bos indicus and Bos indicus-taurus Cows with High or Low Antral Follicles Counts. **Reprod Domest Anim**, Aug 2 2013.

SILVA-SANTOS, K. C.; MARINHO, L. S. R.; SANTOS, G. M. G.; MACHADO, F. Z.; GONZALEZ, S. M.; LISBOA, L. A.; SENEDA, M. M. Ovarian follicle reserve: emerging concepts and applications. **Animal Reproduction**, v. 10, n. 3, p. 180-86, Jul./Sept. 2013.

SINGH, J.; DOMINGUEZ, M.; JAISWAL, R.; ADAMS, G. P. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. **Theriogenology**, v. 62, n. 1-2, p. 227-43, Jul 2004.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biol Reprod**, v. 39, n. 2, p. 308-17, Sep 1988.

WALSH, S. W.; WILLIAMS, E. J.; EVANS, A. C. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Anim Reprod Sci**, v. 123, n. 3-4, p. 127-38, Feb 2011.

2 CAPÍTULO 2 – Artigo Científico (Theriogenology)

População Folicular Antral Ovariana em Vacas e Novilhas das Raças Nelore e Girolando

OLIVEIRA JÚNIOR, J. S.¹

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana-MS, Brasil

RESUMO

Este estudo objetivou avaliar a população folicular antral ovariana (PFAO) de bezerras e vacas das raças Nelore e Girolando, entre 12 e 60 meses de idade. Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) vacas Nelore (n=18); 2) vacas Girolando (n=20); 3) Novilhas Nelore (n=7) e; 4) Novilhas Girolando (n=7). Nos grupos das vacas, os animais receberam um dispositivo intravaginal com 1.9 g de progesterona, 2 mg de benzoato de estradiol IM e 25 mg de dinoprost IM, em um dia aleatório do ciclo estral (D0). No D7 o dispositivo de progesterona foi retirado. Os animais foram submetidos à ultrassonografia ovariana transvaginal para contagem da PFAO no D11. Foram contados todos os folículos ≥ 3 mm de diâmetro em ambos os ovários. O procedimento de contagem da PFAO foi repetido três vezes, com intervalos de 35 dias entre as repetições. Para os grupos de novilhas foram adotados os mesmos procedimentos descritos acima, porém estes animais não receberam o tratamento de sincronização da emergência da onda folicular. Para avaliação da PFAO entre as contagens e da média das contagens entre as raças e os grupos, foi realizada análise de variância (ANOVA) e correlação de Pearson, através do programa SAS, utilizando o Proc GLIMMIX, seguida

de Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não foi observada diferença significativa ($p>0.05$) entre as médias das contagens da PFAO de vacas Nelore e Girolando (30.9 e 26.7, respectivamente) e das novilhas Nelore e Girolando (16.2 e 18.1, respectivamente). Porém, diferença significativa ($p<0.05$) da PFAO entre as categorias de novilhas e vacas da raça Nelore (16.2 e 30.9, respectivamente) e Girolando (18.1 e 26.7, respectivamente) foi observada. Com base nestes dados, conclui-se que a PFAO em fêmeas bovinas das raças Nelore e Girolando é semelhante e influenciada pela idade. Além disso foi possível concluir que a avaliação de um único ovário é suficiente para estimar a PFAO do indivíduo.

Palavras-chave: Folículos antrais, ultrassonografia, bovinos.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the ovarian antral follicular population (PFAO) of heifers and cows from Nelore and Girolando breeds, between 12 and 60 months old. The animals were divided into four groups: 1) Nelore cows ($n=18$); 2) Girolando cows ($n=20$); 3) Nelore heifers ($n=7$) and; 4) Girolando heifers ($n=7$). In the group of cows, the animals received an intravaginal device with 1.9 g of progesterone, 2 mg of estradiol benzoate IM and 25 mg of dinoprost IM, in a random day of the estrous cycle (D0). The progesterone device was removed on D7 and the animals underwent transvaginal ovarian ultrasound to count PFAO on D11. All follicles ≥ 3 mm in diameter in both ovaries were counted. The counting procedure of PFAO was repeated three times at intervals of 35 days between repetitions. In the group of heifers the same procedure described above was carried out, but these animals did not receive treatment for synchronization of follicular wave emergence. To evaluate the PFAO among counts and average counts between breeds and groups, analysis of variance (ANOVA) and Pearson's correlation was performed, through the SAS program, using Proc GLIMMIX, followed by Tukey Test at 5% probability. No significant difference between PFAO of Nelore and Girolando cows (30.9 and 26.7, respectively) and heifers (16.2 and 18.1, respectively) was observed. However, a significant difference of PFAO between heifers

and cows of Nelore (16.2 and 30.9, respectively) and Girolando (18.1 and 26.7, respectively) breed was observed. Based on these data, it is concluded that in bovine females PFAO of Nelore and Girolando breeds is similar and influenced by age. Furthermore the evaluation of a single ovary is sufficient to estimate PFAO of an individual.

Keywords: Antral follicles, ultrasonography, bovine.

Introdução

A raça Girolando é uma raça híbrida que tem origem no cruzamento das raças Gir e Holandês. Esta raça demonstra a alta rusticidade do *Bos taurus indicus* associada à alta produtividade do *Bos taurus taurus*, e teve seu reconhecimento como raça oficial, pelo Ministério da Agricultura Brasileiro, em 1996, o que explica o fato da existência de pouca literatura sobre o comportamento fisiológico reprodutivo desta raça [1].

É expressivo o número de estudos que objetivam melhorar a eficiência na produção de bovinos, principalmente os relacionados a desenvolver e/ou aprimorar biotécnicas que visam aumentar os índices reprodutivos nesta espécie.

Nas últimas cinco décadas, a relação negativa entre alta produção e fertilidade vem sendo observada especialmente em bovinos leiteiros [2, 3]. Nesse sentido, novos estudos são constantemente realizados na tentativa de entender e mudar esse cenário. Uma baixa população de folículos ovarianos antrais em bovinos de leite tem sido associada com algumas características de baixa fertilidade, como ovários menores, menor número de folículos e oócitos nos ovários [4], menor taxa de prenhez no final da estação de monta [5], reduzida capacidade de resposta a superovulação [6, 7], concentrações inferiores de progesterona e hormônio anti-mülleriano [4, 8] e redução da espessura endometrial do dia 0 ao dia 6 do ciclo estral[8]. Assim, o potencial

reprodutivo em animais de produção tem sido relacionado com a população folicular antral ovariana (PFAO) [4, 5, 9, 10], sendo portanto, considerado como mais uma ferramenta de auxílio na seleção de animais.

A seleção de animais de eficiência reprodutiva superior, por metodologia acessível e confiável, pode contribuir ainda mais para melhorar a produtividade do rebanho bovino. Com o objetivo de atingir este propósito, avaliou-se a população folicular antral ovariana, considerando os efeitos raça e idade entre fêmeas bovinas das raças Nelore e Girolando, por ultrassonografia transvaginal.

Muitos são os dados encontrados na literatura sobre animais *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, porém pouco se conhece sobre animais mestiços. Considerando que os cruzamentos são uma excelente ferramenta para produção de leite a custos inferiores, o melhor conhecimento a respeito de sua fisiologia e práticas de seleção são de fundamental importância. Os dados produzidos neste trabalho vêm complementar as informações publicadas sobre as raças puras.

Material e Métodos

Animais

Foram utilizadas fêmeas bovinas das raças Nelore e Girolando, de propriedades localizadas na região do Alto Pantanal, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, latitude - 20° 28' 16", longitude: -55° 47' 14", altitude 147 metros. A temperatura média anual é de 24.2 °C e a pluviosidade média anual é de 1.450 mm. Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) vacas Nelore (n=18; *Bos taurus indicus*); 2) vacas Girolando (n=20; *Bos taurus indicus* ¼ x *Bos taurus taurus* ¾), ambos os grupos com idade entre 24 e 60 meses; 3) Novilhas Nelore (n=7; *Bos taurus indicus*) e; 4) Novilhas Girolando (n=7;

Bos taurus indicus $\frac{1}{4}$ x *Bos taurus taurus* $\frac{3}{4}$), estes com idade entre 12 e 18 meses.

Todos os grupos apresentavam escore de condição corporal entre 2.5 e 3.5 (escala de 1 a 5), não gestantes, não lactantes e sadias, criadas em regime de pastejo rotacionado em capim Braquiária (*Brachiaria brizantha*) e capim Mombaça (*Panicum maximum*), com água e suplementação mineral *ad libitum*.

Protocolo Experimental

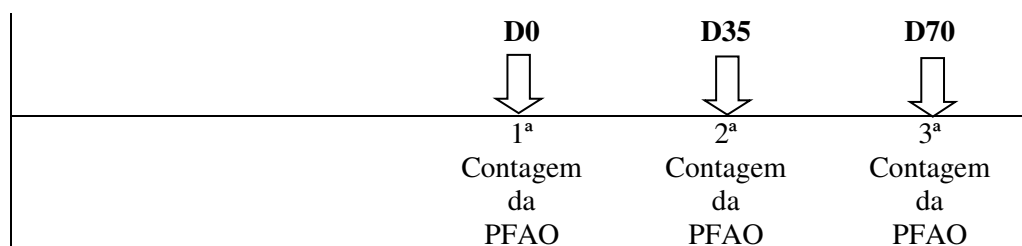
Nos grupos das vacas, os animais receberam um dispositivo intravaginal com 1.9 g de progesterona (DP4 - CIDR®, InterAg - Hamilton, Nova Zelândia), 2 mg de benzoato de estradiol (BE - ESTROGIN®, Farmavet, Brasil) IM e 25 mg de dinoprost (LUTALYSE®, Zoetis, São Paulo, Brasil) IM, em um dia aleatório do ciclo estral, denominado D0. No D7 o dispositivo de progesterona foi retirado. Os animais foram submetidos à ultrassonografia ovariana transvaginal, para contagem da PFAO, no D11 (Figura 1). Antes de cada procedimento de contagem da PFAO, as fezes foram removidas do reto e a região perineal foi lavada com água e higienizada com álcool 70%. Para o procedimento de contagem folicular foi utilizado um aparelho de ultrassom acoplado a um transdutor microconvexo de 7.5 MHz (Aquila®, Pie Medical, Maastricht, The Netherlands). Foram contados todos os folículos ≥ 3 mm de diâmetro em ambos os ovários. O procedimento de contagem da PFAO foi repetido três vezes, com intervalo de 35 dias entre as repetições.

Figura 1 - Protocolo de sincronização de emergência da onda folicular para a contagem da PFAO (vacas)

D0	D7	D11	D46	D81
				
+ DP4 BE Dinoprost	- DP4	1 ^a Contagem da PFAO	2 ^a Contagem da PFAO	3 ^a Contagem da PFAO

Para os grupos de novilhas foram adotados os mesmos procedimentos descritos acima, porém estes animais não receberam o tratamento de sincronização da emergência da onda folicular (Figura 2), para evitar a indução precoce da ciclicidade, sendo realizada a primeira contagem da PFAO em um dia aleatório.

Figura 2 - Protocolo experimental para a contagem da PFAO (novilhas)



Análise Estatística

Para avaliação da PFAO entre as contagens e da média das contagens entre as raças e os grupos, foi realizada análise de variância (ANOVA) e correlação de Pearson, através do programa SAS, utilizando o Proc GLIMMIX, e comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados

A repetibilidade da PFAO entre as contagens foi avaliada por teste de correlação, demonstrando uma correlação positiva e significativa entre as observações.

Tabela 1 – Correlação das médias da PFAO entre as contagens independente de raça e categoria animal.

	Fol 1 x Fol 2	Fol 1 x Fol 3	Fol 2 x Fol 3
Correlação	0.54283 (n=47)	0.55366 (n=51)	0.48076 (n=48)
Significância	<0.0001	<0.0001	0.0005

Fol 1 - média da PFAO da primeira contagem; Fol 2 - média da PFAO da segunda contagem; Fol 3 - média da PFAO da terceira contagem

Os resultados obtidos neste trabalho, demonstraram que a PFAO das raças Nelore e Girolando são semelhantes ($p=0.632$), não havendo influência do efeito raça sobre a característica avaliada. Por outro lado, foi observada diferença ($P<0.001$) entre a PFAO de fêmeas jovens (12 a 18 meses) e adultas (24 a 60 meses).

Tabela 2 – Médias ajustadas das contagens da PFAO de vacas e novilhas das raças Nelore e Girolando.

Categoria	Raça	Média ajustada	Erro padrão
Vacas (n=20)	Girolando	26.7 a	1.7
Vacas (n=18)	Nelore	30.9 a	1.8
Novilhas (n=7)	Girolando	18.1 b	2.8
Novilhas (n=7)	Nelore	16.2 b	2.8

Letras diferentes na coluna ($p<0.05$), pelo Teste de Tukey

A tabela 3 demonstra a alta correlação observada entre a média de folículos dos dois ovários e a média de folículos dos ovários esquerdo e direito separadamente.

Tabela 3 – Correlação entre as médias da contagem folicular dos dois ovários e a média individual dos ovários esquerdo e direito, a cada avaliação.

	OE1	OE2	OE3	OD1	OD2	OD3
Média Fol	0.85787	0.80757	0.74665	0.79060	0.68977	0.56853
	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

OE1 - média da PFAO da primeira contagem dos ovários esquerdos; OE2 - média da PFAO da segunda contagem dos ovários esquerdos; OE3 - média da PFAO da terceira contagem dos ovários esquerdos; OD1 - média da PFAO da primeira contagem dos ovários direitos; OD2 - média da PFAO da segunda contagem dos ovários direitos; OD3 - média da PFAO da terceira contagem dos ovários direitos; Média Fol – média das três contagens de ambos os ovários

Discussão

A média da PFAO encontrada neste estudo para vacas Nelore e Girolando foi 30.9 e 26.7, respectivamente, sugerindo semelhança entre essas raças (Tabela 2). Pesquisas anteriores relataram a emergência de aproximadamente 24 folículos antrais a cada início de onda folicular em *Bos taurus taurus* [11] e um número maior, aproximadamente 50 pequenos folículos, foi detectado durante o surgimento da primeira onda de crescimento folicular em *Bos taurus indicus* [12]. Mais recentemente, outros trabalhos demonstraram um número maior de pequenos folículos em emergência da onda em animais *Bos taurus indicus* (33.4 ± 3.2) quando comparados com animais *Bos taurus taurus* (25.4 ± 2.5) [13], e de 30 a 50 folículos em *Bos taurus indicus* [14]. Esta característica intrínseca dos animais *Bos taurus indicus* pode estar relacionada com maiores níveis circulantes de IGF-I e insulinas livres verificado nestes animais, os quais aumentam a sensibilidade das células da granulosa ao FSH, favorecendo assim o recrutamento folicular [15].

É conhecido que existem diferenças na fisiologia reprodutiva de fêmeas *Bos taurus taurus* quando comparadas com *Bos taurus indicus* [16, 17]. No entanto, este grupo não encontrou na literatura, trabalhos que comparam a PFAO de fêmeas Nelore

(*Bos taurus indicus*) com fêmeas mestiças da raça Girolando (*Bos taurus taurus* $\frac{3}{4}$ x *Bos taurus indicus* $\frac{1}{4}$) nas mesmas condições. Na população estudada pôde-se observar semelhança da PFAO entre animais Girolando e Nelore ($p>0.05$), tanto na categoria de vacas como na de novilhas. Já havia sido demonstrada a capacidade de produção de 20.4 oócitos por OPU de doadoras mestiças Girolando (*Bos taurus taurus* $\frac{3}{4}$ x *Bos taurus indicus* $\frac{1}{4}$), e de 31.4 oócitos por OPU de doadoras mestiças Girolando (*Bos taurus taurus* $\frac{1}{2}$ x *Bos taurus indicus* $\frac{1}{2}$) em programas comerciais de PIVE [18], resultado que corrobora o do presente trabalho que avaliou a variável PFAO, que está diretamente relacionada com produção de oócitos. O mesmo grupo relatou a produção média de 30.8 oócitos para a raça Nelore [19].

Em vacas e novilhas de corte, a PFAO foi relacionada com peso ao nascer e idade, onde houve aumento da PFAO até os cinco anos de idade, a partir de quando houve declínio da mesma [20]. Em semelhança a esses dados, no presente estudo foi observada diferença significativa ($p<0.05$) entre os grupos de novilhas e vacas da raça Nelore (16.2 e 30.9, respectivamente) e novilhas e vacas da raça Girolando (18.1 e 26.7, respectivamente), confirmando assim, o fato de que a PFAO pode estar relacionada com a idade (Tabela 2).

A alta correlação verificada na Tabela 3 indica a possibilidade de se determinar a PFAO do indivíduo através da avaliação de um único ovário, em semelhança ao encontrado anteriormente, onde se pode estimar a PFAO de novilhas através do peso do ovário contralateral ao corpo lúteo [21].

Conclusão

Existe alta repetibilidade entre as avaliações da PFAO de fêmeas jovens e

adultas das raças Nelore e Girolando.

Fêmeas bovinas das raças Nelore e Girolando são semelhantes quanto a PFAO, e este fenótipo pode estar ligado à idade.

A contagem da PFAO de apenas um dos ovários parece ser suficiente para determinar a PFAO do indivíduo.

Referências

- [1] Santos Filho A, Oliveira MA, Caldas JG, Lima PF, Donato IV. Ovarian follicular dynamics of five-eighths Girolando cows. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*. 2001;36:207-10.
- [2] Sartori R, Bastos MR, Wiltbank MC. Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. *Reproduction, fertility, and development*. 2010;22:151-8.
- [3] Walsh SW, Williams EJ, Evans AC. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science*. 2011;123:127-38.
- [4] Ireland JL, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Themmen AP, Ward F, Lonergan P, et al. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of reproduction*. 2008;79:1219-25.
- [5] Mossa F, Walsh SW, Butler ST, Berry DP, Carter F, Lonergan P, et al. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *Journal of dairy science*. 2012;95:2355-61.
- [6] Singh J, Dominguez M, Jaiswal R, Adams GP. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. *Theriogenology*. 2004;62:227-43.
- [7] Ireland JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, Ireland JL, Smith GW, Lonergan P, 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 (Oxford, England)*. 2007;22:1687-95.
- [8] Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JL, Smith GW, Hou X, Davis JS, et al.

- Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biology of reproduction*. 2009;80:1272-81.
- [9] Evans AC, Mossa F, Fair T, Lonergan P, Butler ST, Zielak-Steciwko AE, et al. Causes and consequences of the variation in the number of ovarian follicles in cattle. *Society of Reproduction and Fertility supplement*. 2010;67:421-9.
- [10] Ireland JJ, Smith GW, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JL, et al. 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-Mullerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, fertility, and development*. 2011;23:1-14.
- [11] Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of reproduction*. 1996;55:1187-94.
- [12] Buratini J, Jr., Price CA, Visintin JA, Bo GA. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in nelore (*Bos indicus*) heifers. *Theriogenology*. 2000;54:421-31.
- [13] Carvalho JB, Carvalho NA, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:167-75.
- [14] Loureiro B, Ereno RL, Favoreto MG, Pupulim AG, Fontes PK, Ticianelli JS, et al. Expression of androgen producing enzymes in low and high follicle count Nellore cows. *Animal Reproduction*. 2012;9:458.
- [15] Alvarez P, Spicer LJ, Chase CC, Jr., Payton ME, Hamilton TD, Stewart RE, et al. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of animal science*. 2000;78:1291-302.
- [16] Silva-Santos KC, Marinho LSR, Santos GMG, Machado FZ, Gonzalez SM, Lisboa LA, et al. Ovarian follicle reserve: emerging concepts and applications. *Animal Reproduction*. 2013;10:180-86.
- [17] Sartori R, Barros CM. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. *Animal reproduction science*. 2011;124:244-50.
- [18] Pontes JH, Silva KC, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GM, et al. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos*

- indicus, and indicus-taurus dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology*. 2010;74:1349-55.
- [19] Pontes JH, Melo Sterza FA, Basso AC, Ferreira CR, Sanches BV, Rubin KC, et al. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*. 2011;75:1640-6.
- [20] Cushman RA, Allan MF, Kuehn LA, Snelling WM, Cupp AS, Freetly HC. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. *Journal of animal science*. 2009;87:1971-80.
- [21] Murasawa M, Takahashi T, Nishimoto H, Yamamoto S, Hamano S, Tetsuka M. Relationship between ovarian weight and follicular population in heifers. *The Journal of reproduction and development*. 2005;51:689-93.

3 CAPÍTULO 3 – Considerações Finais

A avaliação da população folicular antral ovariana pode ser mais uma ferramenta para auxiliar no processo de seleção de animais potencialmente mais produtivos, assim como marcadores moleculares e outras ferramentas já existentes para este propósito.

Há necessidade de mais estudos sobre o assunto aqui demonstrado, contudo os resultados obtidos neste trabalho têm alta relevância e irão contribuir com estudos futuros relacionados à contagem da PFAO, com a finalidade de aprofundar o conhecimento sobre o comportamento fisiológico de animais da raça Girolando.

Em avaliações futuras, os dados aqui descritos poderão ser associados à dosagem do AMH e IGF-I, a fim de ter mais consistência sobre o assunto.

O trabalho com um número maior de animais descendentes de uma mesma população poderá trazer mais informações sobre o tema abordado.