



Influência da contagem de folículos antrais na produção *in vitro* de embriões bovinos de doadoras *Bos indicus* e *Bos taurus* – Revisão de literatura

Influence of the antral follicle count on bovine in vitro embryo production from Bos indicus and Bos taurus donors

Ana Clara Canto Souza, Camila Bortoliero Costa, Camila Bizarro da Silva, Larissa Zamparone Bergamo, Fábio Morotti, Marcelo Marcondes Seneda

Universidade Estadual de Londrina (UEL), Laboratório de Reprodução Animal, Londrina, PR, Brasil.

Resumo

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotécnica que se consolidou nos últimos anos e seu uso em bovinos continua a expandir-se, especialmente no Brasil. A facilidade em obter oócitos e as características do rebanho brasileiro foram determinantes para este crescimento. É conhecido que animais *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* possuem diferenças fisiológicas, metabólicas, endócrinas e comportamentais que impactam diretamente a reprodução. Além disso, a contagem de folículos antrais (CFA) é um parâmetro conhecidamente repetível no indivíduo, mas seu impacto na reprodução das fêmeas ainda não está completamente elucidado, especialmente considerando suas interações com a subespécie. O objetivo da presente revisão é destacar os mecanismos pelos quais estas características influenciam o rendimento e aplicabilidade da produção *in vitro* de embriões bovinos.

Palavras-chave: *Bos indicus*, *Bos taurus*, contagem de folículos antrais, produção *in vitro* de embriões.

Abstract

In vitro embryo production (IVP) is a well established biotechnic, and its use in bovines is still expanding, especially in Brazil. The facility to obtain oocytes associated to the breed characteristics of the Brazilian herd were decisive for this expansion. It is known that the physiology, metabolism, endocrinal system and behavior are different for Bos taurus indicus and Bos taurus taurus animals, and these differences may impact directly on the characteristics of reproduction of these animals. Furthermore, the antral follicle count (AFC) is known to present high repeatability on the same female, but its impact on the female reproduction remains unclear, either in the interaction between AFC and subspecies. The aim of this review is to highlight the mechanisms through which the AFC and subspecies may influence the income and feasibility of bovine in vitro embryo production.

Keywords: *antral follicle count, Bos indicus, Bos taurus, in vitro embryo production.*

Introdução

A produção *in vitro* de embriões (PIVE), a partir de 1995, obteve uma grande expansão, com destaque para o Brasil que figura hoje como um dos países mais importantes no mercado mundial de embriões (Hasler, 2014). São produzidos no mundo, cerca de 666 mil embriões pelo método *in vitro*, dos quais 346 mil são produzidos no Brasil (IETS, 2017).

Estudos recentes têm demonstrado a influência das características da doadora na qualidade dos oócitos obtidos, alterando significativamente os resultados da técnica (Batista et al., 2016). Ireland et al. (2007) observaram uma maior quantidade de oócitos recuperados e número de embriões produzidos a partir de doadoras com alta CFA quando comparada com aquelas de baixa CFA. Outros estudos também demonstram vantagens quantitativas da alta CFA para a produção de embriões, estudando individualmente animais *Bos taurus* (Ireland et al., 2007, 2009; Mossa et al., 2012) animais *Bos indicus* (Santos et al., 2016) ou seus cruzamentos (Pontes et al., 2010). Neste contexto, esta revisão visa discutir a influência da CFA de fêmeas bovinas, das subespécies *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, sobre a produção e a qualidade de embriões produzidos *in vitro*.

A produção de embriões bovinos ao longo dos anos

A partir de 2005, a produção mundial de embriões alcançou números recordes, e pela primeira vez, em 2015, a produção *in vitro* de embriões bovinos superou a produção *in vivo* (IETS, 2016), reflexo do crescimento expressivo do uso da técnica de aspiração folicular guiada por ultrassom (*Ovum Pick-Up* - OPU) associada as técnicas de maturação, fertilização e cultivo *in vitro*, especialmente na América do Sul.

A América do Norte lidera hoje a produção mundial de embriões obtidos *in vivo*. Por outro lado, na produção *in vitro* de embriões obtidos a partir da OPU, o Brasil se destaca como líder mundial (IETS, 2016, 2017). O país teve um crescimento histórico a partir de 1998 com a utilização das técnicas de OPU e PIVE associadas,

Correspondência: anacantosouza@gmail.com

Recebido: 31 de outubro de 2018

Aceito: 5 de abril de 2019



alcançando a impressionante marca de 86% dos embriões transferidos a partir do cultivo *in vitro* no ano de 2011, permanecendo até o momento como o maior produtor mundial (Hasler, 2014; IETS, 2017). Na América do Norte a maior parte dos embriões bovinos são obtidos com protocolos de superovulação, enquanto que no Brasil, uma imensa quantidade de oócitos são obtidos sem o uso de hormônios (Hasler, 2014; IETS, 2017). O rebanho brasileiro é composto, em sua maioria, por animais *Bos indicus* e seus cruzamentos (IBGE, 2016), sendo este um fator determinante para a ampliação da produção *in vitro* de embriões no país. De maneira geral, estes animais não respondem tão bem a superovulação, resultando em menor produção de embriões quando comparados a animais *Bos taurus* (Peixoto et al., 2006; Pontes et al., 2010), entretanto, os resultados utilizando a aspiração folicular são muito satisfatórios (Pontes et al., 2011). Em um estudo no qual foram utilizadas 656 fêmeas da raça Nelore, foram aspirados em média 23 oócitos viáveis por sessão, alcançando um número máximo de 128 oócitos viáveis em uma única aspiração (Pontes et al., 2011).

Diferenças fisiológicas entre subespécies e o uso de biotécnicas reprodutivas

Com relação aos aspectos reprodutivos, as diferenças entre animais *Bos indicus* e *Bos taurus* são observadas tanto na dinâmica quanto nas estruturas ovarianas (Sartori et al., 2016). O diâmetro do folículo ovulatório, assim como o volume médio do corpo lúteo (CL) são menores em animais *Bos indicus* comparados àqueles de animais *Bos taurus* (Sartori et al., 2016). Apesar de menores estruturas ovarianas, fêmeas *Bos indicus* apresentam maiores concentrações séricas de hormônios esteroides, progesterona e estrógeno, do que fêmeas taurinas, e estas diferenças foram observadas tanto em fêmeas com CL funcional quanto com fontes exógenas destes hormônios (Sartori et al., 2016).

Em estudo comparando animais da raça Nelore (*Bos indicus*) e Holandês (*Bos taurus*), as fêmeas Nelore apresentaram maior proporção de sincronização da emergência da onda folicular em protocolos de baixa concentração de estradiol até seis dias após o início do tratamento (97,5% de resposta ao tratamento em *Bos indicus* e 84,9% em *Bos taurus*), além de manterem maiores concentrações séricas deste hormônio após 24 horas da aplicação de benzoato de estradiol. (Sartori et al., 2016). A metabolização hepática tem papel importante na regulação da concentração sérica destes hormônios (Sangsrivavong et al., 2002), e uma diferença na velocidade da metabolização poderia explicar esta diferença observada entre animais *Bos indicus* e *Bos taurus* (Sartori et al., 2016). Sabe-se que a alta ingestão de matéria seca, energia e estado fisiológico influenciam o *clearance* hepático, e esta, poderia ser a razão para as diferenças hormonais entre as subespécies (Sangsrivavong et al., 2002). Porém, Sartori et al. (2016) demonstraram que animais *Bos indicus* (Nelore) e *Bos taurus* (Holandês) sob mesmas condições de dieta e estado fisiológico ainda apresentaram a mesma diferença de concentração sérica de estrógeno e progesterona, indicando que a diferença no metabolismo hepático seria uma característica inerente a subespécie. Além disso, a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) também estão em maiores concentrações séricas em animais zebuínos (Lemley et al., 2008; Sartori et al., 2016). Tanto a insulina quanto o IGF-I estimulam o crescimento e desenvolvimento de células da granulosa, aumento de atividade de enzimas transformadoras de colesterol e inibição de enzimas hepáticas que metabolizam os hormônios esteroides (Lemley et al., 2008).

Apesar de maiores concentrações de estrógeno, fêmeas zebuínas apresentam cio mais curtos, durando em média 12 horas e com manifestação noturna, enquanto animais taurinos manifestam cio por mais tempo, duração média de 16 horas (Sartori et al., 2016). Porém, em fêmeas leiteiras de alta produção, frequentemente animais taurinos da raça holandesa, o cio também tende a ser mais curto em consequência da alta taxa de metabolismo (Wiltbank et al., 2006). Estes dados reforçam a hipótese de que o metabolismo hepático tem forte influência sobre o manejo reprodutivo, e a aplicação correta de biotécnicas reprodutivas, considerando os fatos supracitados, pode ser decisiva para a melhora nas taxas de concepção em ambas subespécies.

Contagem de foliculos antrais e fertilidade

Animais *Bos indicus* apresentam frequentemente, três ondas de crescimento folicular por ciclo e maior número de foliculos pequenos (2 a 5 mm de diâmetro) na emergência da onda folicular, diferentemente de animais *Bos taurus*, que apresentam menor número de foliculos recrutados e duas a três ondas foliculares (Sartori et al., 2016). A CFA pode ser determinada pela contagem de todos estes foliculos recrutados, maiores que 3 mm, através do exame ultrassonográfico dos ovários (Morotti et al., 2015). Recentemente, a CFA tem sido sugerida como parâmetro de seleção para animais de alta fertilidade e rendimento para OPU e PIVE, devido sua alta repetibilidade em um mesmo indivíduo e sua grande variabilidade entre indivíduos. Além disso, sabe-se que apenas um exame ultrassonográfico, mesmo que desconhecida a fase do ciclo, é suficiente para definir com assertividade a CFA de um animal (Ireland et al., 2007, 2008; Morotti et al., 2017).

Em animais *Bos taurus*, a CFA está diretamente relacionada a parâmetros de fertilidade (Ireland et al., 2007; Jimenez-Krassel et al., 2009; Mossa et al., 2012) porém em animais *Bos indicus* a relação da CFA com o sucesso reprodutivo ainda não está bem elucidada (Morotti et al., 2017). Em animais taurinos, a baixa CFA está relacionada a menor capacidade das células luteínicas em produzir progesterona, resultando em menores níveis



séricos e maior amplitude de LH pré-ovulatório, que por sua vez, estão relacionados a insensibilidade dos tecidos ovarianos a este hormônio (Jimenez-Krassel et al., 2009). Junto com estas descobertas, foram constatadas diferenças na quantidade de alguns RNAs mensageiros dentro das células da granulosa, maiores níveis de FSH e menor espessura do endométrio nos animais taurinos de baixa CFA (Ireland et al., 2007; Jimenez-Krassel et al., 2009). Estes parâmetros estão relacionados à infertilidade e morte embrionária precoce (Ireland et al., 2007). Mossa et al. (2012), utilizando fêmeas taurinas, constataram que a taxa de prenhez (>60 dias) foi 3,3 vezes maior para animais de alta CFA e a prenhez ao primeiro serviço foi 1,7 vezes maior para animais de contagem intermediária quando comparados aos animais de baixa CFA submetidos à inseminação artificial (IA) convencional. Além disso, o estudo também relatou menor intervalo do parto a concepção para vacas de alta CFA e maior probabilidade de prenhez ao final da estação (Mossa et al., 2012).

Embora promissores, existem algumas divergências entre resultados mais recentes em animais taurinos (Martinez et al., 2016; Jimenez-Krassel et al., 2017). Ao passo que, se considerarmos animais zebrúinos, a relação da CFA com a fertilidade parece ser ainda mais complexa (Morotti et al., 2017). Até o momento, não foi possível correlacionar animais com alta CFA a maiores taxas de prenhez ou concepção, na verdade, os resultados encontrados em animais *Bos indicus* sugerem melhores taxas de concepção em animais de baixa CFA (Mendonça et al., 2013; Santos et al., 2013). É possível que os mecanismos relacionados à fertilidade e alta CFA encontrados em animais taurinos (Jimenez-Krassel et al., 2009) não sejam os mesmos, ou não respondam da mesma maneira em animais zebrúinos, devido às diferenças fisiológicas entre as subespécies. Desta forma, mais pesquisas neste campo são necessárias para melhor esclarecer estas particularidades.

CFA e a produção de embriões

Quanto à produção *in vitro* de embriões, os resultados avaliando a CFA são bastante consistentes tanto para animais *Bos indicus* quanto *Bos taurus*. Como doadoras de oócitos, sabe-se que há uma vantagem numérica dos animais de alta CFA, os quais produzem maior número oócitos por sessão de OPU, maior número de embriões, blastocistos e blastocistos eclodidos (Ireland et al., 2007; Pontes et al., 2010; Santos et al., 2016). Em animais taurinos submetidos a OPU, aqueles classificados como alta CFA resultaram em maior número de total oócitos recuperados e submetidos à maturação, maior número de embriões produzidos e maior número de blastocistos eclodidos (Ireland et al., 2007). De maneira semelhante, animais *Bos indicus* ou mestiços *Bos indicus-taurus* com maior número de oócitos recuperados também apresentaram maior número de embriões produzidos e que deram origem a um maior número total de gestações (Pontes et al., 2010; Silva-Santos et al., 2014a). Sabe-se também que há um efeito da subespécie sobre o uso de OPU e sobre a produção *in vitro* de embriões. Animais zebrúinos apresentaram, em diferentes trabalhos, maior número de oócitos recuperados por sessão de OPU, maiores números de oócitos viáveis, blastocistos e blastocistos eclodidos que fêmeas taurinas (Pontes et al., 2010, 2011; Sartori et al., 2016). Comparando diferentes raças, (Gonçalves et al., 2011) relatam uma média geral de 32% para a taxa de blastocistos, sendo que nas raças europeias foi encontrada uma média que variou de 21% a 35% e considerando somente a raça Nelore a média encontrada foi de 31%. Em trabalho mais recente, em relação a eficácia da produção *in vitro* de embriões, Santos et al. (2016) alcançou 78,9% para taxa de clivagem e 41,9% para taxa de blastocistos utilizando fêmeas Nelore.

Santos et al. (2016) e Silva-Santos et al. (2014a), utilizando animais *Bos indicus* e cruzamentos *Bos indicus-taurus*, respectivamente, encontraram maiores taxas de clivagem e blastocistos com animais de alta (>40 folículos) quando comparados aos de baixa CFA (<10 folículos). Fato este, também relatado por Garcia et al. (2017), que utilizaram a raça Girolando e observaram que animais de alta CFA (35 a 52 folículos) apresentaram maiores taxas de blastocisto (23% vs. 18%) e maior porcentagem de prenhez por transferência (42% vs. 39%) se comparadas aos animais de baixa CFA (11 a 17 folículos). Estes resultados diferem dos resultados de Ireland et al., (2007) e Pontes et al., (2010), que apesar de relatarem maior número de oócitos viáveis, não relatam diferença na proporção dos embriões resultantes da produção *in vitro* entre os grupos. Em trabalho recente, Rosa et al. (2018) demonstraram maior quantidade de mRNA relacionados à maturação em complexos *cumulus*-oócitos (CCO's) coletados de fêmeas Nelore de baixa CFA comparado aos animais de alta CFA. Entretanto, não foram observadas diferenças entre estes grupos nas taxas produção de embriões *in vitro*. Ainda assim, animais de alta CFA apresentam uma vantagem numérica bastante expressiva na produção *in vitro* de embriões (Silva-Santos et al., 2014a). Trabalhando com dados de um grande número de animais (n = 317), Pontes et al. (2011) demonstraram que com maior número de oócitos recuperados por animal, foi possível produzir até cinco vezes mais embriões e quatro vezes mais gestações no grupo considerado de alta contagem (58,9 oócitos recuperados em média) quando comparado ao grupo de menor contagem (10,2 oócitos recuperados em média). Estes resultados corroboram aqueles relatados por Santos et al. (2016), que além de maior número de oócitos e embriões por OPU realizada, também relatam maior número de embriões vitrificáveis nos animais de alta CFA (15 embriões/OPU) comparados aos de baixa CFA (0,4 embriões/OPU).

Confrontando dados da literatura, as informações indicam que possivelmente a maior eficiência encontrada em grupo de alta CFA está relacionada quase exclusivamente às vantagens quantitativas (maior número de folículos e oócitos) e não necessariamente aos benefícios qualitativos. No entanto, este é um assunto que precisa ser melhor



investigado. A explicação para a diferença na CFA entre fêmeas bovinas permanece desconhecida. Sabe-se que animais *Bos indicus* apresentam maior CFA que animais *Bos taurus*, e que animais cruzados $\frac{1}{2}$ *Bos indicus* $\frac{1}{2}$ *Bos taurus* apresentam maior CFA que animais puros (Ireland et al., 2007; Silva-Santos et al., 2014a; Morotti et al., 2017). Foi proposto que animais zebrúinos provavelmente teriam maior quantidade de folículos primordiais, porém Silva-Santos et al. (2011) demonstraram que não há diferença entre o número de folículos primordiais das subespécies, porém em animais cruzados Nelore-Angus houve maior população de folículos pré-antrais do que em animais Nelore puros (Silva-Santos et al., 2014b). Alguns autores sugerem que o maior número de ondas por ciclo observadas em animais *Bos indicus* possa favorecer o crescimento de diversos pequenos folículos rapidamente, o que justificaria o maior rendimento nos procedimentos de OPU (Silva-Santos et al., 2011). Ainda, diferenças na taxa de atresia, mitose de células germinativas e a população de folículos multioócitos também foram sugeridas como possíveis explicações para as diferenças observadas entre subespécies, mas até o momento estas relações não foram claramente estabelecidas (Ireland et al., 2007; Pontes et al., 2010; Silva-Santos et al., 2011).

Apesar dos resultados conflitantes em torno da qualidade dos embriões produzidos por animais de alta CFA, ainda é justificável sua escolha para programas de produção *in vitro* de embriões. O valor genético deve ser o primeiro ponto a ser considerado na escolha das reprodutoras, visto que este será amplamente difundido no rebanho, e a seleção das melhores matrizes para o programa de produção de embriões poderá ser realizado baseado em um único exame ultrassonográfico, priorizando fêmeas de maior CFA (Morotti et al., 2017).

Conclusão

A técnica de produção *in vitro* de embriões (PIVE) progrediu de forma significativa nos últimos anos, especialmente no Brasil, e a CFA pode ser uma ferramenta importante na escolha de doadoras para sua aplicação. Ainda, compreender as características inerentes à doadora, como a subespécie, é de fundamental importância para adaptação e sucesso das biotécnicas reprodutivas empregadas. Maiores estudos são necessários para melhor compreender as interações entre a subespécie e a CFA, e como estes dois fatores associados podem influenciar a reprodução dos bovinos.

Referências

- Batista EOS, Guerreiro BM, Freitas BG, Silva JCB, Vieira LM, Ferreira RM, Rezende RG, Basso AC, Lopes RNVR, Rennó FP, Souza AH, Baruselli PS.** Plasma anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for *in vitro* embryo production. *Domest Anim Endocrinol*, v.54, p.1-9, 2016.
- Garcia SM, Lunardelli PA, Anastacio M, Ancieto KL, Otávio J, Silva F, Oliveira EC DE, Zangirolamo AF, Seneda MM.** Avaliação da taxa de blastocisto e prenhez de embriões produzidos *in vitro* em decorrência da contagem de folículos antrais em vacas da raça Girolando. *Rev Acad Ciênc Anim*, v.15(Supl.2), p.S67-67, 2017. (Resumo).
- Gonçalves PBD, Figueiredo JR, Freitas VJF.** Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. 2.ed. São Paulo, Brasil: Varela, 340p, 2011.
- Hasler JF.** Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology*, v.81, n.1, p.152-169, 2014.
- Instituto Brasileiro de geografia e estatística (IBGE).** Produção pecuária municipal Produção Pecu Munic. Rio de Janeiro: [s.n.]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2016_v44_br.pdf>.
- International Embryo Transfer Society (IETS).** Statistics of Embryo Collection and Transfer in Domestic Farm Animals Embryo Transf Newsletter. Champaing: [s.n.], 2016. Disponível em: <https://www.iets.org/pdf/comm_data/IETS_Data_Retrieval_2015_V2.pdf> .
- International Embryo Transfer Society (IETS).** Statistics of Embryo Collection and Transfer in Domestic Farm Animals Embryo Transf Newsletter. [s.n.]. 2017. Disponível em: <https://www.iets.org/pdf/comm_data/IETS_Data_Retrieval_Report_2016_v2.pdf>.
- Ireland JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO.** 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.1687-1695, 2007.
- Ireland JJ, Zielak-Steciwo AE, Jimenez-Krassel F, Folger J, Bettgowda A, Scheetz D, Walsh S, Mossa F, Knight PG, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO.** Variation in the Ovarian Reserve Is Linked to Alterations in Intrafollicular Estradiol Production and Ovarian Biomarkers of Follicular Differentiation and Oocyte Quality in Cattle1. *Biol Reprod*, v.80, n.5, p.954-964, 2009.
- Ireland JLH, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Themmen APN, Ward F, Lonergan P, Smith GW, Perez GI, Evans ACO, Ireland JJ.** Antral Follicle Count Reliably Predicts Number of Morphologically Healthy Oocytes and Follicles in Ovaries of Young Adult Cattle1. *Biol Reprod*, v.79, n.6, p.1219-1225, 2008.
- Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JLH, Smith GW, Hou X, Davis JS, Lonergan P, Evans ACO, Ireland JJ.** 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.1272-1281, 2009.
- Jimenez-Krassel F, Scheetz DM, Neuder LM, Pursley JR, Ireland JJ.** A single ultrasound determination of ≥ 25 follicles ≥ 3 mm in diameter in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. *J Dairy Sci*, v.100, n.6, p.5019-5027, 2017.
- Lemley CO, Butler ST, Butler WR, Wilson ME.** Short Communication: Insulin Alters Hepatic Progesterone Catabolic Enzymes Cytochrome P450 2C and 3A in Dairy Cows. *J Dairy Sci*, v.91, n.2, p.641-645, 2008.
- Martinez MF, Sanderson N, Quirke LD, Lawrence SB, Juengel JL.** Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. *Theriogenology*, v.85, n.3, p.466-475, 2016.
- Mendonça HGR, Santos GMG, Silva-Santos KC, Barreiros TRR, Blaschi W, Morotti F, Moraes FLZ, Seneda MM.** Pregnancy rates following FTAI of Nelore heifers (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. *Anim Reprod*, v.10, p.452, 2013. (Resumo).
- Morotti F, Barreiros TRR, Machado FZ, González SM, Marinho LSR, Seneda MM.** Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? *Anim Reprod*, v.12, n.3, p.479-486, 2015.
- Morotti F, Zangirolamo AF, Silva NC, Silva CB, Rosa CO, Seneda MM.** Antral follicle count in cattle: advantages, challenges, and controversy. *Anim Reprod*, v.14, n.3, p.514-520, 2017.
- Mossa F, Walsh SW, Butler ST, Berry DP, Carter F, Lonergan P, Smith GW, Ireland JJ, Evans ACO.** 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.2355-2361, 2012.
- Peixoto MGCD, Bergmann JAG, Fonseca CG, Penna VM, Pereira CS.** Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors. *Arq Bras Med Vet e Zootec*, v.58, n.4, p.567-574, 2006.
- Pontes JHF, Melo Sterza FA, Basso AC, Ferreira CR, Sanches B V., Rubin KCP, Seneda MM.** 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.1640-1646, 2011.
- Pontes JHF, Silva KCF, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GMG, Sanches B V., Porcionato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterza FAM, Schenk JL, Seneda MM.** 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.1349-1355, 2010.
- Rosa CO, Marinho LSR, Mp R, Pa DC, Ac KCS, Bordignon B V, Seneda MM.** Molecular characteristics of granulosa and cumulus cells and oocyte competence in Nelore cows with low and high numbers of antral follicles. *n.March*, p.921-929, 2018.
- Sangsrivong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC.** High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. *J Dairy Sci*, v.85, n.11, p.2831-2842, 2002.
- Santos GMG DOS, Silva-Santos KC, Barreiros TRR, Morotti F, Sanches BV, De Moraes FLZ, Blaschi W, Seneda MM.** High numbers of antral follicles are positively associated with *in vitro* embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. *Anim Reprod Sci*, v.165, p.17-21, 2016.
- Santos GMG, Silva-Santos KC, Barreiros TRR, Blaschi W, Morotti F, Silva CB, Moraes FLZ, Giudicissi DPL, Seneda MM.** Conception rates following FTAI of Nelore cows (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. *Anim Reprod*, v.10, n.3, p.451, 2013. (Resumo).
- Sartori R, Gimenes LU, Monteiro PLJ, Melo LF, Baruselli PS, Bastos MR.** Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology*, v.86, n.1, p.32-40, 2016.
- Silva-Santos KC, Santos GMG, Koetz Júnior C, Morotti F, Siloto LS, Marcantonio TN, Urbano MR, Oliveira RL, Lima DCM, Seneda MM.** Antral follicle populations and embryo production - *In Vitro* and *In Vivo* - of *bos indicus-taurus* donors from weaning to yearling ages. *Reprod Domest Anim*, v.49, n.2, p.228-232, 2014a.
- Silva-Santos KC, Santos GMG, Siloto LS, Hertel MF, Andrade ER, Rubin MIB, Sturion L, Melo-Sterza FA, Seneda MM.** Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. *Theriogenology*, v.76, n.6, p.1051-1057, 2011.
- Silva-Santos KC, Siloto LS, Santos GMG, Morotti F, Marcantonio TN, Seneda MM.** 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*, v.49, n.1, p.48-51, 2014b.
- Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsrivong S, Gümen A.** Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, v.65, n.1, p.17-29, 2006.
-