



Contagem de folículos antrais: relação com a eficiência das biotécnicas e fertilidade

Antral follicle count: relationship with the efficiency of biotechniques and fertility

Fábio Morotti^{1,2*}, Higor Souza de Camargo¹, Leonardo Oliveira Lopes Silva^{1,2}, Elis Lorenzetti^{3,4}, Amanda Fonseca Zangirolamo¹, Marcelo Marcondes Seneda¹

¹Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (REPROA), UEL, Londrina, PR, Brasil

²Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias, UEL, Londrina, PR, Brasil

³Laboratório de Virologia Animal (LABVIRAL), UEL, Londrina, PR, Brasil

⁴Mestrado em Saúde e Produção Animal, Universidade Pitágoras Unopar, Arapongas, PR, Brasil

Resumo

A implementação das biotécnicas reprodutivas juntamente com os programas de melhoramento genético tem contribuído expressivamente para uma rápida disseminação de indivíduos melhoradores, tanto pelo uso da inseminação artificial, quanto pela produção *in vivo* e *in vitro* de embriões. No entanto, a eficiência destes programas está condicionada a uma série de fatores que podem afetar de maneira significativa a performance reprodutiva tanto em bovinos de corte, como de leite. Neste contexto, a contagem de folículos antrais (CFA) se destaca como um dos fatores de maior influência e ainda pouco compreendido. Empregando a ultrassonografia, fêmeas podem ser classificadas em baixa, intermediária ou alta CFA, devido à alta variabilidade desta contagem no rebanho. Além disso, a alta repetibilidade desta característica possibilita realizar esta classificação em diferentes momentos da vida reprodutiva da fêmea. De maneira geral, doadoras de alta CFA tem proporcionado maiores rendimentos embrionários tanto na técnica *in vivo* quanto *in vitro*. Entretanto, fêmeas de baixa CFA têm apresentado maiores diâmetros foliculares e maior taxa de prenhez quando submetidas à IATF. Embora a CFA atue como um fator de grande influência, sua herdabilidade é baixa e não há relação com características zootécnicas de programas de melhoramento. Finalmente, a CFA tem se destacado como uma importante ferramenta de seleção de matrizes e que tem contribuído significativamente para um maior sucesso nos programas reprodutivos.

Palavras-chave: Contagem de folículos antrais; Produção de embriões; Inseminação Artificial em Tempo Fixo; Mérito genético.

Abstract

The implementation of reproductive biotechniques and genetic improvement programs has significantly contributed to a fast dissemination of animals with high genetic, both by artificial insemination and in vivo and in vitro embryo production. However, the efficiency of these programs is conditioned to several factors that can considerably affect the reproductive performance in both beef and dairy cattle. In this context, the antral follicle count (AFC) stands out as one of the most influential and still poorly understood factors. Females can be classified as low, intermediate, or high AFC by ultrasonography due to the high variability of this count in the herd. In addition, the high repeatability of this characteristic allows high confidence in carrying out this classification at different times of the reproductive life. In general, high AFC donors have provided higher embryo yields both in vivo and in vitro. However, females with low AFC have shown larger follicular diameters and higher pregnancy rate when submitted to TAI. Although AFC is a factor of great influence, its heritability is low and there is no relationship with zootechnical characteristics of breeding programs. Finally, AFC has emerged as an important tool to female's selection and has significantly contributed to greater success in breeding programs.

Keywords: Antral follicle count; Embryo production; Timed Artificial Insemination; Genetic merit.

Introdução

O uso das biotécnicas reprodutivas juntamente com os programas de melhoramento genético tem contribuído para uma otimização significativa da produção animal, favorecendo a produção de alimentos básicos, como a carne e o leite, além de contribuir com uma maior lucratividade no sistema pecuário. Tal

*Correspondência: fabiomorotti@uel.br

Recebido: 29 de setembro de 2021

Aceito: 17 de novembro de 2021

sucesso tem sido altamente efetivo porque empregando técnicas como a inseminação artificial e, principalmente, a produção *in vivo* e *in vitro* de embriões, é possível alcançar uma rápida disseminação de indivíduos de alto mérito genético em um curto espaço de tempo (Mapletoft e Hasler, 2005; Hansen, 2014).

Entretanto, a eficiência destas biotécnicas está estritamente correlacionada ao número ou contagem de folículos antrais (CFA) maiores ou iguais a 3 mm de diâmetro, característica reprodutiva que pode ser facilmente avaliada por ultrassonografia transretal e que muitos estudos apontam estar relacionada com a *performance* reprodutiva e fertilidade da fêmea (Ireland et al., 2011; Evans et al., 2012; Morotti et al., 2015; 2017). Neste contexto, a CFA tem sido do amplamente estudada, tanto em bovinos de corte, quanto de leite, se destacando como uma ferramenta estratégica para seleção de animais que possuem maior probabilidade de sucesso reprodutivo (Morotti et al., 2015; 2017a; Garcia et al., 2020).

Portanto, considerando que as biotécnicas reprodutivas tem um grande impacto sobre a produção animal e podem ser afetadas pela CFA da fêmea, o objetivo deste estudo é apresentar uma revisão sobre os principais aspectos ligados a esta característica reprodutiva, ressaltando principalmente a relação da CFA com a eficiência das biotécnicas reprodutivas e a fertilidade na fêmea bovina.

CFA: uma ferramenta altamente variável no rebanho, mas repetível no indivíduo

A CFA é uma característica reprodutiva de alta variabilidade em um rebanho, o que permite a classificação de fêmeas em lotes de baixa, intermediária ou alta CFA (Figura 1). Tecnicamente, a CFA é determinada empregando o exame ultrassonográfico transretal para contagem de todos os folículos antrais (diâmetro ≥ 3 mm) presentes em ambos os ovários. A varredura se inicia no pedículo e se estende de uma face a outra do ovário e todos os folículos que aparecem na tela do ultrassom são contados. Tal avaliação apresenta-se altamente confiável devido à alta repetibilidade desta contagem no mesmo animal. Estudos demonstram altos valores de repetibilidade, com uma variação (de 0,86 a 0,93 em fêmeas taurinas (Burns et al., 2005), 0,93 em zebuínas (Morotti et al., 2018) e de 0,90 a 0,92 em animais cruzados (*Bos indicus- taurus*); (Silva-Santos et al., 2014; Morotti et al., 2017b).

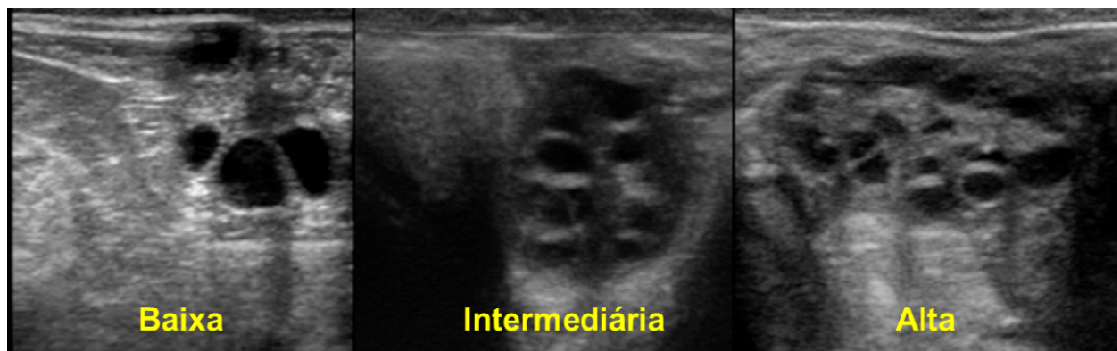


Figura 1. Imagem ultrassonográfica do ovário de vacas com baixa (≤ 15 folículos), intermediária ($\geq 16 \leq 24$ folículos) e alta (≥ 25 folículos) contagem de folículos antrais (CFA). Observação: as imagens representam os folículos presentes em apenas uma face de um ovário.

Embora a subespécie e a raça possam resultar em variações na contagem folicular, a CFA apresenta alta repetibilidade independentemente da idade, da estação do ano, do *status* lactacional, do número de ondas de crescimento folicular (Burns et al., 2005; Ireland et al., 2007), da ocorrência de puberdade (Morotti et al., 2017b) ou da implementação do protocolo hormonal para IATF (Morotti et al., 2018). Assim sendo, com a obtenção dos dados da CFA de uma fêmea em um determinado momento, é possível utilizar esta contagem em outras situações reprodutivas e para diferentes finalidades.

Em um longo estudo, a CFA foi monitorada em 137 novilhas da raça Braford (*Bos indicus taurus*, 3/8 Hereford x 5/8 Nelore), cujas avaliações ultrassonográficas foram realizadas com intervalos de 60 dias, desde o desmame (9 meses de idade; pré-puberdade; Dia 0) até o sobreano (24 meses; pós-puberdade; Dia 300). Ao final do estudo, 18,3% das novilhas demonstraram CFA ≥ 41 folículos, 63,5% apresentaram CFA intermediária (12 a 40 folículos) e 18,3% exibiram ≤ 10 folículos antrais (Figura 2). A CFA variou de 3 a 64 folículos entre a novilhas, mas a repetibilidade foi alta em todos os grupos (alta = 0,90; intermediária = 0,89 e baixa = 0,92), independentemente de as fêmeas terem alcançado a puberdade (Morotti et al., 2017b).

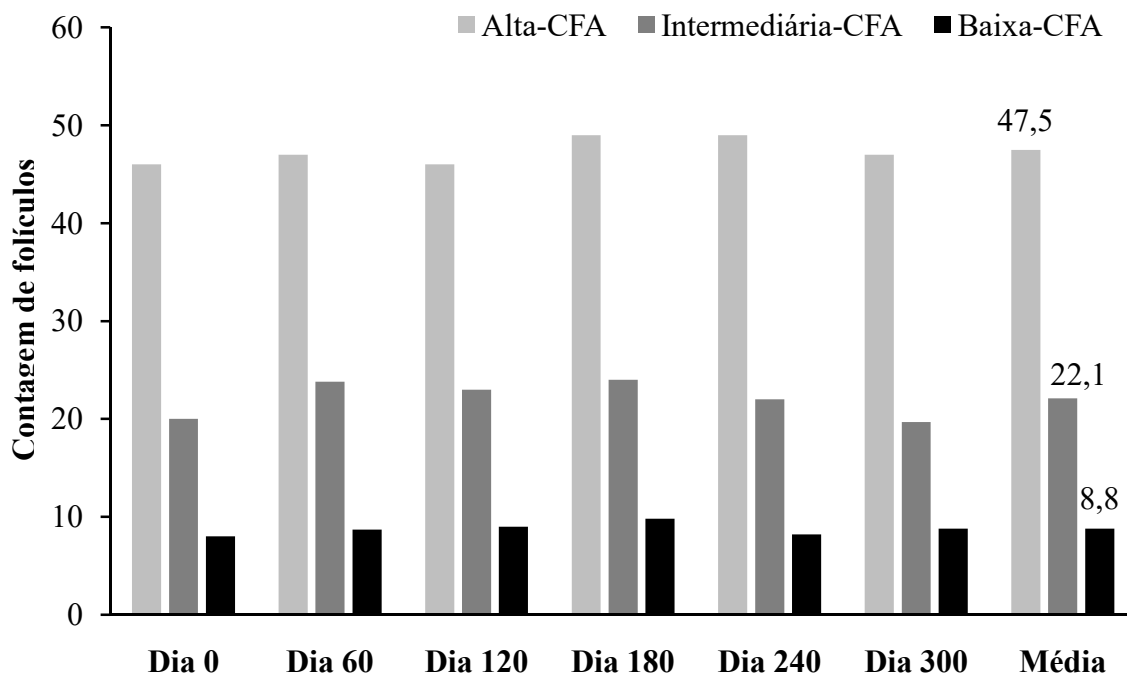


Figura 2. Contagem de folículos antrais (CFA) durante as avaliações de ultrassom desde o desmame (período pré-púbere) até o sobreano (após a puberdade) em novilhas de corte com alta (≥ 41 folículos, $n = 25$), intermediária (12 a 40 folículos, $n = 87$) ou baixa CFA.

Adaptado de Morotti *et al.* (2017b).

Em suma, devido à alta repetibilidade, a CFA se tornou uma estratégia de alta confiabilidade para identificação e classificação de fêmeas em baixa, intermediária e alta CFA (Burns *et al.*, 2005; Ireland *et al.*, 2007; 2008), mesmo quando realizada em animais jovens (Silva-Santos *et al.*, 2014; Morotti *et al.*, 2017b). Este contexto da população folicular ovariana também tem sido estudado pela dosagem de hormônio anti-mülleriano (AMH). Isso porque a CFA apresenta uma alta correlação com a concentração plasmática de AMH, sintetizado nas células da granulosa de folículos pré-antrais e antrais (Ireland *et al.*, 2008; 2011). Portanto, empregando o ultrassom do ovário também é possível um monitoramento eficaz, mais simples e num menor custo da população folicular ovariana e/ou a CFA (Morotti *et al.*, 2015; 2017a; Seneda *et al.*, 2019).

Relação da CFA com a produção de embriões

CFA e SOV/TE

Doadoras com alta CFA apresentam melhor performance para produção *in vivo* de embriões quando comparadas com doadoras de baixa AFC (Ireland *et al.*, 2007; Silva-Santos *et al.*, 2014; Ireland *et al.*, 2011). Em rebanho *Bos taurus* por exemplo, doadoras com CFA ≥ 25 folículos resultaram em média quase duas vezes mais CLs, estruturas recuperadas e embriões transferíveis quando comparadas com vacas que tinham CFA ≤ 15 folículos (Ireland *et al.*, 2007). Esse dado é interessante, uma vez que evidencia uma aplicação prática da CFA na seleção de doadoras de embrião que apresentam melhor resposta em programas de superovulação.

De maneira semelhante, a dosagem de AMH tem sido considerada um ótimo marcador endócrino para resposta ao tratamento gonadotrófico de superovulação (Ireland *et al.*, 2011; Jimenez-Krassel *et al.*, 2015), mas o custo para dosagem deste hormônio ainda é elevado. Assim, em decorrência da alta correlação entre a CFA e AMH (Batista *et al.*, 2014), a CFA tem sido utilizada como ferramenta para prever o sucesso ao tratamento superovulatório (Ireland *et al.*, 2011; Zangirolamo *et al.*, 2018). De maneira geral fêmeas com baixa CFA frequentemente resultam em menor resposta ovariana aos

tratamentos de superestimulação e baixo potencial para produção de embriões (Singh et al., 2004; Ireland et al., 2007; Silva-Santos et al., 2014).

CFA e OPU/FIV

Assim como observado na SOV/TE, na produção *in vitro* de embriões (PIVE), doadoras de alta CFA também apresentam um melhor desempenho geral para produção embrionária. Ao comparar doadoras de baixa *versus* alta CFA, é notória a vantagem numérica para fêmeas de alta contagem, que demonstram uma maior quantidade de oócitos aspirados por sessão, maior número de blastocistos, de blastocistos eclodidos e de embriões transferíveis (Ireland et al., 2007; Pontes et al., 2010; Santos et al., 2016; Garcia et al., 2020), bem como um maior número de prenhez subsequentes (Ireland et al., 2011; Pontes et al., 2011; Santos et al., 2016).

Ao considerar o efeito da subespécie, sabe-se que fêmeas *Bos indicus* apresentam uma maior quantidade de oócitos recuperados por *ovum pick-up* (OPU), de oócitos viáveis, de blastocistos e blastocistos eclodidos quando comparadas às fêmeas *Bos taurus*, possivelmente pela maior população ovariana de folículos antrais em animais zebuínos (Pontes et al., 2010; 2011; Sartori et al., 2016). Embora este efeito ainda não seja completamente compreendido, é possível que mecanismos que controlam o processo de desenvolvimento ou atresia folicular possam diferir entre subespécies e categorias de CFA (Ireland et al., 2007; Silva-Santos et al., 2014; Morotti et al., 2017a).

Um estudo de aspecto aplicado foi conduzido em doadoras de embrião (*Bos taurus indicus*; novilhas de sobreano) que foram monitoradas ao longo de um ano para classificação dos grupos de baixa, intermediária e alta CFA (Silva-Santos et al., 2014). Posteriormente, doadoras com baixa e alta CFA foram submetidas a um programa de PIVE e um programa de SOV/TE para avaliar os efeitos dos programas e da CFA. Neste estudo os autores observaram que tanto na PIVE, quanto na SOV/TE, fêmeas com alta CFA apresentam um melhor desempenho (Figura 3), com um maior número de oócitos recuperados ($36,9 \pm 13,6$ vs. $5,8 \pm 3,4$), mais embriões produzidos *in vitro* ($6,1 \pm 4,5$ vs. $0,5 \pm 0,8$); bem como uma maior média de embriões por coleta ($6,9 \pm 5,3$ vs. $1,9 \pm 2,1$). Portanto, tais resultados reforçam a relação positiva entre CFA e quantidade de embriões obtidos, independentemente da técnica de produção de embrião utilizada. Por outro lado, em se tratando apenas de doadoras com baixa CFA, estrategicamente a produção *in vivo* foi mais eficiente que a *in vitro*.

Em doadoras da raça Nelore (N = 317) submetidas à PIVE, Pontes et al. (2011) observaram que fêmeas de alta CFA tiveram mais oócitos recuperados (média de 58,9), resultando em cinco vezes mais embriões e quatro vezes mais gestações quando comparadas àquelas de baixa CFA (média de 10,2 oócitos recuperados). Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al. (2016), que encontraram maior número de embriões vitrificáveis por OPU em vacas de alta CFA ($15,0 \pm 7,0$) em relação às de baixa CFA ($0,4 \pm 0,6$).

Outro fator a ser considerado para um maior êxito nesta biotécnica é a fase de desenvolvimento folicular no momento da recuperação oocitária. Melhores taxas de embriões *in vitro* e de prenhez após transferência foi relatada em animais que tiveram o ciclo estral sincronizado, em relação aos não sincronizados (Cavaliere et al., 2018). De forma semelhante, Garcia et al. (2020) avaliaram o efeito da sincronização folicular prévia à OPU em doadoras de baixa e alta CFA. Neste estudo as doadoras receberam uma sincronização da onda de crescimento folicular com a inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona em um dia aleatório do ciclo estral (D0), além da administração de 2 mg de benzoato de estradiol e 530 µg de D-cloprostenol. Após 5 dias, o dispositivo foi removido e todas as doadoras receberam OPU. Como conclusão, os autores relataram uma interação positiva entre CFA e sincronização, sendo que os melhores resultados (oócitos totais, oócitos viáveis, embriões e prenhez) foram alcançados em doadoras de alta CFA que receberam sincronização folicular pré-OPU.

Diante dos resultados disponíveis até o momento, tanto para produção *in vivo* quanto *in vitro*, doadoras de alta CFA apresentam vantagens quantitativas devido ao grande potencial folicular. Além disso, fica evidente que a sincronização da onda pré-OPU, especialmente na doadora de alta contagem, pode ser benéfico em proporcionar a recuperação de oócitos mais homogêneos com relação ao seu desenvolvimento, favorecendo a uma maior eficiência nos programas de PIVE.

Relação da CFA com a fertilidade à IATF

A relação entre CFA e produção de embriões tem apresentado resultados bem consistentes, entretanto, tratando-se de fertilidade à inseminação artificial em tempo fixo (IATF), ainda são

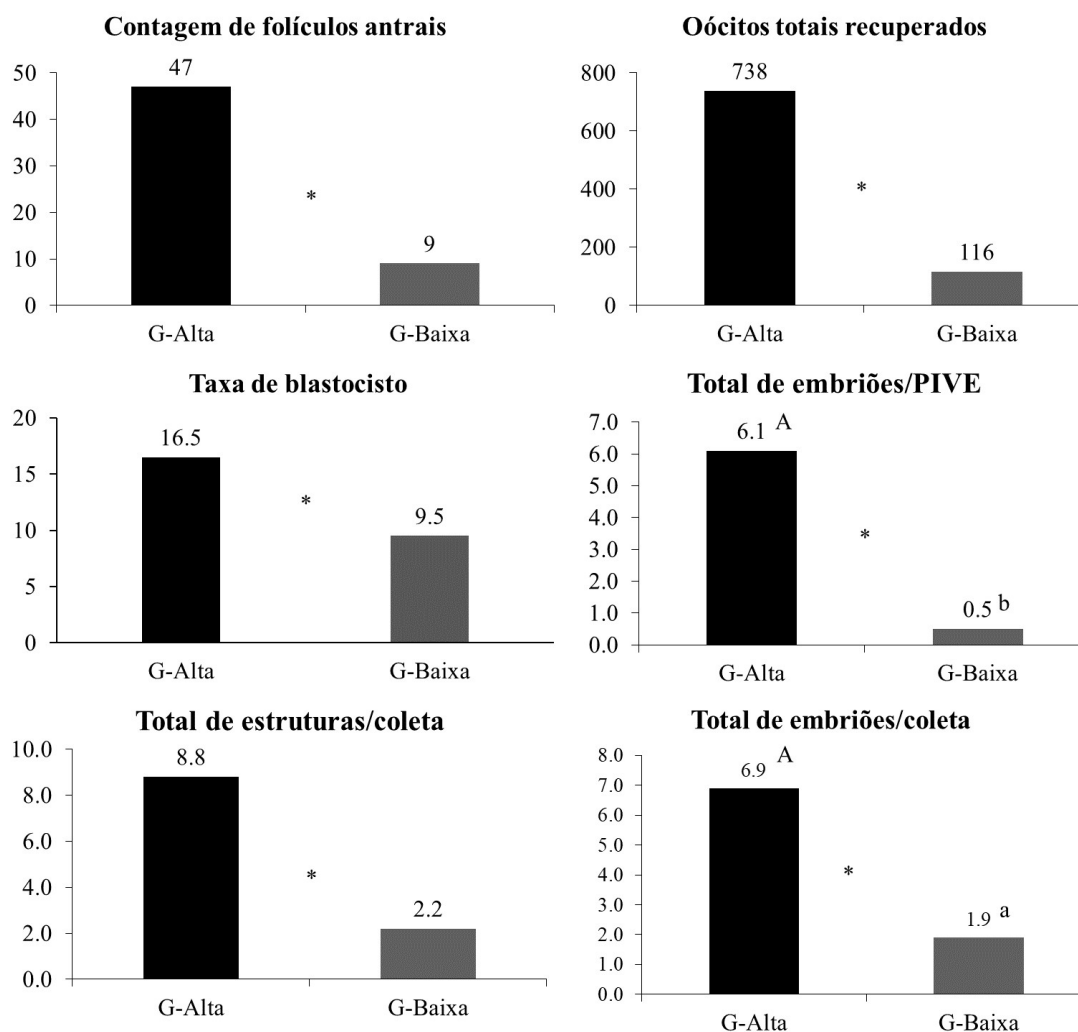


Figura 3. Produção *in vitro* e *in vivo* de embriões em doadoras *Bos indicus-taurus* com alta (≥ 40 folículos) e baixa (≤ 10 folículos) contagem de folículos antrais (CFA).

* Indica diferença ($p \leq 0,05$) entre os grupos de alta e baixa CFA. ^{A, B} para o grupo de alta e ^{a, b} para o grupo de baixa CFA, indica diferença ($p \leq 0,05$) para o número total de embriões (PIVE vs. coleta). Adaptado de Silva-Santos et al. (2014).

controversos, principalmente quando são comparadas as subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus*.

Diversos estudos norte americanos e europeus, conduzidos especificamente em rebanhos *Bos taurus*, tem destacado que fêmeas de baixa CFA estão associadas à várias características de baixa fertilidade, tal como ovários menores (Ireland et al., 2008), reduzida espessura endometrial (Jimenez-Krassel et al., 2009), menores concentrações circulantes de progesterona e AMH (Ireland et al., 2011; Evans et al., 2012) e menor prenhez ao final da estação reprodutiva (Mossa et al., 2012; Martinez et al., 2016).

Por outro lado, uma série de estudos conduzidos em rebanhos *Bos indicus* e que avaliaram a relação da CFA com fertilidade à IATF tem encontrado resultados controversos aos estudos iniciais com animais taurinos, sendo que fêmeas de baixa CFA têm apresentado maior taxa de prenhez (Morotti et al., 2018; Moraes et al., 2019; Lima et al., 2020). Além disso, um rebanho de fêmeas da raça Holandês, monitorado por um período de 5 lactações, revelou que vacas de alta CFA demonstraram menor fertilidade e uma vida reprodutiva mais curta quando comparadas às vacas de baixa CFA (Jimenez-Krassel et al., 2017).

Buscando compreender melhor a relação entre CFA e fertilidade em programa de IATF, vacas Nelore com baixa e alta CFA receberam protocolo de IATF para controle da dinâmica folicular ovariana e para avaliação da taxa de concepção (Morotti et al., 2018). Este estudo mostrou informações relevantes

sobre a dinâmica folicular, em que fêmeas de baixa CFA apresentaram maiores diâmetros foliculares (dominante e pré-ovulatório) e taxas de concepção, em comparação aos animais com alta CFA (Tabela 1).

Outros estudos têm reforçado a maior taxa de concepção à IATF em vacas de baixa CFA, além de revelar interação com escore de condição corporal (Moraes *et al.*, 2019) e ambiente folicular mais favorável para a competência oocitária (Lima *et al.*, 2020). O estudo de Lima *et al.* (2020) demonstrou uma dinâmica folicular favorável, maior concentração de progesterona e maior fertilidade à IATF para categoria de baixa CFA. Adicionalmente, os autores também puderam observar que a expressão de genes relacionados à comunicação intercelular, controle de meiose, modulação epigenética, divisão celular, crescimento folicular, manutenção celular, esteroidogênese e resposta ao estresse celular, foram regulados positivamente em oócitos e células do *cumulus* de fêmeas Nelore com baixa CFA.

Embora a relação entre CFA e fertilidade na inseminação ainda não esteja completamente compreendida, a CFA tem se destacado como um fator de grande importância por afetar os resultados dos programas reprodutivos. Com base nos estudos mais recentes é possível ressaltar que estes efeitos são mais evidentes, dependendo da subespécie (parece ser mais intenso em animais zebuínos do que taurinos), da nutrição e condição corporal, bem como do conjunto de medidas de manejo que são realizadas durante os programas reprodutivos.

Relação da CFA com mérito genético

Embora a alta CFA vem sendo utilizada como parâmetro para a seleção de doadoras para programas de PIVE e SOV/TE, devido as vantagens quantitativas para a produção de embriões, há uma grande preocupação em relação à fertilidade futura dos rebanhos, caso ocorra uma seleção maciça de animais segundo a quantidade de folículos antrais. Certamente isso é relevante porque a alta CFA é mais vantajosa para técnicas embrionárias, enquanto a baixa CFA tem sido mais favorável para técnica de inseminação artificial.

A CFA é uma característica reprodutiva de baixa a média herdabilidade, sendo de $0,25 \pm 0,13$ em novilhas e $0,31 \pm 0,14$ em vacas (gado Holandês; Walsh *et al.*, 2014). Além disso, um estudo que avaliou a correlação entre CFA e uma série de características zootécnicas utilizadas em programa de melhoramento genético da raça Braford (*Bos indicus-taurus*), revelou que a CFA não está correlacionada com o conjunto de características que compõe o *ranking* de avaliação dos animais (Morotti *et al.*, 2017). Além disso, os grupos de baixa, intermediária e alta CFA estiveram igualmente distribuídos entre os top 1% melhores animais do *ranking*. Entretanto, dos 4 modelos estatísticos testados (variáveis do desmame / $R^2 = 0,07$; variáveis do sobreano / $R^2 = 0,05$; variáveis do desmame+sobreano / $R^2 = 0,08$ e variáveis do desmame+sobreano+touro / $R^2 = 0,17$), aquele que contempla o efeito paterno apresentou um maior coeficiente de determinação, apontando que possivelmente o efeito touro pode ter uma participação importante na variabilidade da CFA das filhas.

Portanto, com base nas evidências demonstradas, a CFA é uma característica reprodutiva de grande influência na eficiência das biotécnicas reprodutivas e na fertilidade, sendo uma ferramenta importante para seleção de matrizes ou para melhor direcionamento reprodutivo nos rebanhos. Embora não haja correlação entre CFA com características de *performance* genética, a seleção de fêmeas sempre deve ser pautada no seu mérito genético, na sequência a CFA pode ser considerada como critério de avaliação.

Considerações

De forma geral, devido à alta repetibilidade da CFA em uma mesma fêmea, é possível através de um único exame ultrassonográfico dos ovários, uma melhor destinação de doadoras para produção *in vivo* e *in vitro* de embriões, sem qualquer prejuízo ao seu mérito genético, tornando-se uma ferramenta de grande valor para seleção de fêmeas. Entretanto, se faz necessário mais pesquisas para compreender a relação com fertilidade à IATF, principalmente quando são comparadas as subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus*.

Referências

Batista EOS, Macedo GG, Sala RV, Ortolan M, Sá Filho MF, Del Valle TA, Jesus EF, Lopes R, Rennó FP, Baruselli PS. Plasma antimüllerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reprod Domest Anim*, v.49, p.448–452, 2014.



- Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Knight PG, Ireland JJ.** 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, p.54-62, 2005
- Cavalieri FLB, Morotti F, Colombo AHB, Andreazzi MA, Emanuelli IP.** Improvement of bovine in vitro embryo production by ovarian follicular wave synchronization prior to ovum pick-up. *Theriogenology*, v.117, p.57-60, 2018.
- Evans ACO, Mossa F, Walsh SW, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Smith GW, Ireland JJ.** Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. *Reprod Domest Anim*, v.47, p.31-37, 2012.
- Garcia S, Morotti F, Cavalieri F, Lunardelli P, Santos A, Membrive C, Castilho C, Puelker R, Silva J, Zangirolamo A, Seneda MM.** Synchronization of stage of follicle development before OPU improves embryo production in cows with large antral follicle counts. *Anim Reprod Sci*, v.221, 106601, 2020.
- Hansen P.** Current and future assisted reproductive technologies for mammalian farm animals. In: Lamb GC, DiLorenzo N, editors. Current and future reproductive technologies and world food production. New York: *Springer*, p.1 e 22, 2014.
- Ireland JJ, Smith GW, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JL, Mossa F, Lonergan P, Evans AC.** 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 cattle. *Biol Reprod*, v.79, p.1219-1225, 2011.
- 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, p.1687-1695, 2007.
- 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 cattle. *Biol Reprod*, v.79, n.6, p.1219-1225, 2008.
- 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, p.5019-5027, 2017.
- 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, p.1272-1281, 2009.
- Jimenez-Krassel F, Scheetz DM, Neuder LM, Ireland JLH, Pursley JR, Smith GW, Tempelman RJ, Ferris T, Roudebush WE, Mossa F, Lonergan P, Evans ACO, Ireland JJ.** Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *J Dairy Sci*, v.98, p.3036-3045, 2015.
- Lima MA, Morotti F, Bayeux BM, De Rezende RG, Botigelli RC, De Bem TH, Fontes PK, Nogueira MFG, Meirelles FV, Baruselli PS, da Silveira JC, Perecin F, Seneda MM.** Ovarian follicular dynamics, progesterone concentrations, pregnancy rates and transcriptional patterns in *Bos indicus* females with a high or low antral follicle count. *Sci Rep* v.10, p.19557, 2020.
- Mapletoft RJ, Hasler JF.** Assisted reproductive technologies in cattle: a review. *Rev Sci Tech* v.24, p.393-403, 2005.
- 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, p.466-475, 2016.
- Moraes FLZ, Morotti F, Costa CB, Lunardelli PA, Seneda MM.** Relationships between antral follicle count, body condition, and pregnancy rates after timed-AI in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, v.136, p.4-10, 2019.
- Morotti F, Moretti R, Santos, GMG, Silva-Santos KC, Cerqueira PHR, Seneda MM.** Ovarian follicular dynamics and conception rate in *Bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. *Anim Reprod Sci*, v.188, p.170-177, 2018.
- Morotti F, Santos GMG, Júnior CK, Silva-Santos KC, Roso VM, Seneda MM.** Correlation between phenotype, genotype and antral follicle population in beef heifers. *Theriogenology*. v.91, p.21-26, 2017b.
- 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, 2017a.



- 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.
- 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, p.2355-2361, 2012.
- 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.
- 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.
- 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, 2014.
- Singh J, Domínguez M, Jaiswal R, Adams GP.** A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. *Theriogenology*, v.62, p.227-243, 2004.
- Seneda MM, Morotti F, Zangirolamo AF, Silva NC, Sanches TK, Blaschi W, Barreiros TRR.** Antral follicle population in prepubertal and pubertal heifers. *Reprod Fertil Dev*, 31(1), 10-16, 2019.
- Walsh SW, Mossa F, Butler ST, Berry DP, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Tempelman RJ, Carter F, Lonergan P, Evans ACO, Ireland JJ.** Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral follicle count in cattle. *J Dairy Sci*, 97:4503-4511, 2014.
- Zangirolamo AF, Morotti F, da Silva NC, Sanches TK, Seneda MM.** Ovarian antral follicle populations and embryo production in cattle. *Anim Reprod*, v.15, p.310-315, 2018.
-