

Efeito estacional sobre características ovarianas e produção de oócitos em vacas *Bos indicus* no Mato Grosso do Sul

Seasonality of ovarian characteristics and oocytes production in *Bos indicus* cattle in Mato Grosso do Sul

Carlos Eurico FERNANDES¹; Margot Alves Nunes DODE²;
Karine GODOY³; Norma RODOVALHO²

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Carlos Eurico Fernandes
EMBRAPA / CNPGC
79002-970 – Campo Grande – MS
e-mail: cafernandes@enersulnet.com.br

1- Departamento de Patologia, CCBS,
da Universidade Federal do Mato
Grosso do Sul – MS
2- EMBRAPA, CNPGC
3- Bióloga

RESUMO

Verificou-se o efeito de duas distintas estações do ano (seca e chuvosa) sobre algumas características ovarianas em vacas *Bos indicus* abatidas na região de Campo Grande, MS. Ovários (n = 10) foram obtidos nos meses de novembro e dezembro de 1998 e de janeiro a outubro de 1999. No laboratório, os ovários foram avaliados quanto ao peso (g), volume (Vol. (cm³) = 3/4 p x comprimento/2 x largura/2 x espessura/2), número de corpos lúteos, número de folículos com ≥ 9 mm de diâmetro, número total de folículos com menos de 9 mm, número de oócitos, oócitos viáveis e oócitos degenerados. O efeito principal da estação (seca ou chuvosa) foi estimado pela análise de variância (teste t), para modelos completamente ao acaso. Utilizou-se a análise da correlação simples entre as variáveis estudadas, ajustadas para o efeito da estação. Os resultados revelaram que o peso dos ovários (5,1 x 6,5 g), folículos totais (10,1 x 13,7), corpos lúteos (0,32 x 0,47, p < 0,05) e a percentagem de oócitos viáveis (19,6% x 35,6%) sobre o total de oócitos variaram significativamente (p < 0,01) entre as estações seca e chuvosa, respectivamente. A análise da correlação (r) mostrou coeficientes significativos (p < 0,01) entre peso e volume (r = 0,78), peso e total de folículos (r = 0,32), peso e corpos lúteos (r = 0,41), total de folículos e oócitos viáveis (r = 0,57), entre outros. Concluiu-se que importantes modificações na função ovariana, com base na produção e qualidade dos oócitos, podem ser estimadas entre a estação seca e chuvosa. Com base nestas características, a estação chuvosa torna-se mais favorável para a implantação de programas reprodutivos em rebanhos comerciais.

UNITERMOS: Bovinos; Ovário; Oócitos.

INTRODUÇÃO

Os modernos sistemas de criação, a seleção de indivíduos com alta fertilidade tem sido acelerada com base nos conhecimentos de genética, nutrição, fisiologia, patologia e, sobretudo, na aplicação de programas reprodutivos controlados. No entanto, as condições ambientais incidem diretamente sobre as criações, refletindo nas características produtivas dos rebanhos.

No Mato Grosso do Sul, região típica de cerrado, observam-se duas épocas distintas ao longo do ano: uma chuvosa e outra seca, no verão e inverno, respectivamente. Alterações na umidade relativa do ar, pluviometria, tipo de solo e na cobertura forrageira são aspectos importantes que em certas situações podem limitar a eficiência reprodutiva⁴⁰. Tais características climáticas têm favorecido a manutenção de rebanhos de origem zebuína, adaptada às condições tropicais^{11,39}.

Os efeitos da variação estacional sobre a atividade cíclica de fêmeas *Bos indicus* têm sido reportados em diversas localizações geográficas, coincidindo com períodos de anestro ou cios anovulatórios^{6,29,40,26}. Em geral, durante os meses de inverno, há uma diminuição na incidência de ovulações correspondendo à queda dos níveis de concepção^{18,35}. Nesta época, conforme Lee²⁰, associam-se os efeitos fisiológicos do pós-parto, da lactação e ainda

da categoria da fêmea (novilhas de primeira cria), resultando em queda sensível na condição corporal e falha na ovulação de folículos dominantes presentes após a luteólise³¹.

Além dos efeitos estacionais, outras características reprodutivas também têm sido atribuídas às raças zebuínas. Em comparação com as fêmeas *Bos taurus*, as fêmeas zebuínas apresentam ovários e corpos lúteos menores^{2,35}, menor número de folículos por ovário³⁸ e oócitos qualitativamente inferiores durante os meses de seca^{8,37}. Mesmo assim, há poucas informações sobre outras características (físicas e funcionais) em zebuínos, assim como suas relações com a qualidade dos oócitos em função da época do ano. Este estudo teve como objetivo determinar as variações do peso e volume ovarianos, verificar a qualidade e quantidade dos oócitos produzidos e estabelecer critérios que possam ser úteis na avaliação da função reprodutiva em vacas de corte.

MATERIAL E MÉTODO

Ovários (n = 10) de vacas *Bos indicus* (predominantemente Nelore) vazias foram obtidos mensalmente em matadouros de Campo Grande, MS (20° 26' 34''S e 54° 38' 47''O), nos meses de novembro e dezembro de 1997 e de janeiro a outubro de 1998. No frigorífico, os ovários eram retirados do aparelho reprodutivo e mantidos em solução de PBS a 35 - 37°C acrescida de 100 UI/ml

de penicilina e 100 mg/ml de estreptomicina. No laboratório, os ovários eram dissecados, retirando-se o excesso de tecido (ligamento largo e ligamento do ovário) e em seguida procedia-se à mensuração do seu comprimento, largura e espessura com um paquímetro. O volume (cm^3) era estimado utilizando-se a seguinte equação: $\text{Vol.} = 3/4 p \times \text{comprimento}/2 \times \text{largura}/2 \times \text{espessura}/2$, adaptado de Love²¹. Após, os ovários eram pesados e anotava-se o total de folículos e aqueles que apresentavam 9 mm ou mais de tamanho (medidos com paquímetro) e o número de corpo(s) lúteo(s). Em seguida, os oócitos eram aspirados de todos os folículos, utilizando-se uma agulha 18 G com auxílio de uma bomba de vácuo e mantidos no líquido folicular. Eram transferidos para placa de Petri e, sob estereomicroscopia classificados em viáveis ou degenerados. Oócitos viáveis foram classificados por apresentar ooplasma homogêneo, zona pelúcida intacta e lâmina compacta de células do *cummulus*. Consideraram-se oócitos degenerados aqueles desprovidos de células do *cummulus* (desnudos) ou em expansão, com alterações morfológicas no ooplasma (vacúolos) e na zona pelúcida, baseando-se nos critérios de Monniaux et al.²⁵ e Costa et al.⁵ Os dados referentes à temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm^3) foram analisados a partir da média mensal, coletados junto à central climatológica da EMBRAPA-CNPQC, Campo Grande, MS. Definuiu-se como época chuvosa os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março, e época seca os meses de maio, junho, julho, agosto e setembro, segundo Honer¹⁵. A comparação das médias foi realizada pela análise de variância (Teste t, LSD) para modelos completamente ao acaso, verificando-se o efeito de época (chuvosa e seca) sobre o peso e volume ovariano, total de folículos, número de corpos lúteos, número de folículos com mais de 9 mm ou mais de diâmetro, total de oócitos viáveis e número de oócitos degenerados. A análise da correlação simples (r) foi realizada pelo método de Pearson com $p < 0,01$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise retrospectiva de dados meteorológicos tem possibilitado a identificação de duas épocas bem distintas em termos de precipitação pluviométrica na região de Campo Grande, Mato Grosso do Sul¹⁶, que se caracteriza por um clima tropical de savana. No período experimental (janeiro a dezembro), além da precipitação pluviométrica, outras duas variáveis foram incluídas na análise climática: umidade do ar e temperatura ambiental, sendo todas diferentes ($p < 0,01$) entre as estações (Tab. 1). No Estado, o efeito estacional tem sido fator importante no estudo da disponibilidade de forragens para criações extensivas⁴⁰, bem como nas decisões de manejo visando melhor produtividade³⁶.

A comparação entre distintas épocas do ano mostrou efeito significativo em algumas características ovarianas, conforme a Tab. 2. Nos meses de maior pluviosidade (novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março) observou-se que os ovários apresentaram-se mais pesados e com número total de folículos maior e, por consequência, maior número de oócitos viáveis. Ainda que a média de folículos com 9 mm ou mais de diâmetro não tenha sido diferente entre as estações, a média de corpos lúteos por ovário foi maior ($p < 0,05$) na estação chuvosa ($0,52 \pm 0,54$) em relação à seca ($0,32 \pm 0,47$), sugerindo que a população de folículos pré-

ovulatórios possui maiores possibilidades de completar este processo em época do ano mais favorável. Estes achados estão na dependência de padrões endócrinos distintos entre estações. Diversos autores têm demonstrado os efeitos de estímulos ambientais sobre a função ovariana de vacas *Bos indicus*, que, em geral, mostram incremento nos níveis circulantes de LH, FSH e progesterona a partir da primavera^{19,26,30,34} e diminuição no diâmetro dos folículos ovarianos assim como no número de corpos lúteos em épocas de restrição alimentar³¹. No entanto, o efeito estacional sobre a atividade reprodutiva nas fêmeas *Bos indicus* é mais marcante nas regiões tropicais úmidas¹¹ podendo chegar a 28% de ciclos anovulatórios nos meses de inverno com menor pluviosidade²⁹. Tais modificações nas características ovarianas representam aspectos básicos da atividade reprodutiva das fêmeas em rebanhos extensivos e denotam uma dependência direta de fatores extrínsecos, como luminosidade e temperatura^{13,20}.

A estimativa do volume ovariano foi incluída na tentativa de estabelecer um parâmetro para o exame clínico dos ovários (exame retal) e associá-lo a outras características ovarianas de interesse. Embora o volume não tenha sido diferente entre as estações seca e a chuvosa (3,8 x 4,1, respectivamente), correlacionou-se ($p < 0,01$, Tab. 3) com o peso ovariano, totais de folículos, de oócitos e de corpos lúteos, demonstrando uma tendência de que ovários maiores são mais pesados. No entanto, a utilização deste parâmetro na estimativa da função gonadal torna-se limitada, à medida que os folículos dispõem-se aleatoriamente no

Tabela 1

Comparação de diferentes variáveis climáticas de acordo com a estação do ano entre novembro de 1997 e outubro de 1998 no Mato Grosso do Sul.

Variáveis climáticas	Estação			
	Seca		Chuvosa	
	n = 50	epm	n = 50	epm
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	21,0	$\pm 0,16$	25,0*	$\pm 0,03$
Umidade relativa do ar (%)	72,0	$\pm 0,60$	77,0*	$\pm 0,52$
Precipitação pluviométrica (mm^3)	88,9	$\pm 6,6$	137,8*	$\pm 5,3$

n = número de ovários; epm = erro padrão da média; diferença significativa entre colunas* ($p < 0,01$).

Tabela 2

Características ovarianas de acordo com a estação do ano em vacas *Bos indicus* no Estado de Mato Grosso do Sul.

Características ovarianas (média)	Estação			
	Seca		Chuvosa	
	n = 50	epm	n = 50	epm
Peso (g)	5,1	$\pm 0,36$	6,5*	$\pm 0,35$
Volume (cm^3)	3,4	$\pm 0,39$	4,1	$\pm 0,35$
Total de folículos	10,1	$\pm 0,56$	13,7*	$\pm 1,07$
Corpos lúteos	0,32	$\pm 0,47$	0,52**	$\pm 0,54$
Folículos ≥ 9 mm	0,16	$\pm 0,07$	0,22	$\pm 0,07$
Total de oócitos	6,4	$\pm 0,48$	7,3	$\pm 0,59$

n = número de ovários; epm = erro padrão da média; diferença significativa entre colunas; * ($p < 0,01$), ** ($p < 0,05$).

Tabela 3

Correlação (r) ajustada para estação do ano entre características ovarianas em vacas *Bos indicus* no Estado de Mato Grosso do Sul.

	Peso (g)	Volume (cm ³)	Total de folículos	Corpos lúteos	Folículos ≥ 9 mm	Total de oócitos	Oócitos viáveis	Oócitos Desnudos
Peso (g)	-							
Volume (cm ³)	0,78	-						
Total de folículos	0,32	0,24	-					
Corpos lúteos	0,41	0,34	ns	-				
Folículos ≥ 9 mm	ns	ns	ns	ns	-			
Total de oócitos	0,40	0,38	0,72	0,11	ns	-		
Oócitos viáveis	0,22	ns	0,57	0,12	ns	0,54	-	
Ovóc. degenerados	0,24	0,29	0,45	ns	ns	0,79	ns	ns

ns = não-significativo; os coeficientes indicados são significativos ($p < 0,01$).

parênquima ovariano e nem sempre são percebidos ao exame retal. Isto fica evidente pelo aumento significativo do total de folículos com menos de 9 mm na estação chuvosa sem que haja aumento no volume. Além disso, as correlações ajustadas para a época do ano entre volume ovariano com totais de folículos ($r = 0,24$), de oócitos ($r = 0,38$) e de corpos lúteos ($r = 0,34$) são muito baixas, evidenciando marcada influência de outros fatores. Por outro lado, o peso ovariano apresentou maior correlação com a presença de corpos lúteos e total de oócitos ($r = 0,41$; $r = 0,40$, $p < 0,01$), mostrando que, em termos gerais, apenas 16% do peso dos ovários decorreu da presença destas importantes estruturas ovarianas. Assim, a simples detecção de um corpo lúteo no ovário não seria um fator tão preponderante para estabelecer o padrão de atividade cíclica, embora seja possível estimar com boa precisão o estágio de seu desenvolvimento e associá-lo ao dia do ciclo após a ovulação¹⁷. Outros aspectos passam a ser relevantes, como a categoria ou tipo de folículo ovariano. A grande maioria dos folículos encontrados neste estudo constituiu uma população heterogênea, com menos de 9 mm de diâmetro. A dinâmica desta população, em termos de desenvolvimento, está na dependência de fatores como a presença de um folículo dominante no ovário¹, índice mitótico nas células da granulosa²², proliferação nuclear³⁸, entre outros¹². Além disso, o perfil da atividade ovariana pode afetar estas correlações, como a variação do tamanho e da taxa de crescimento de folículos dominantes entre ondas foliculares³. Entre 6 e 12 meses pós-parto, a ocorrência de ondas foliculares pode variar de 7 a 20, com folículos dominantes esporádicos permanecendo entre 2 e 8 dias a cada ciclo³³. Outro fator importante refere-se à condição corporal da vaca. De acordo com Domínguez⁷, a prevalência de folículos acima de 5 mm de diâmetro bem como a qualidade dos oócitos aumenta em função da condição corporal. Embora no presente estudo não se tenha estimado a condição corporal da vaca antes do abate, a quantidade de folículos com 9 mm ou mais, assim como a média de oócitos encontrada por ovário, foi bem inferior ao reportado em outros estudos^{8,24,28} em ambas as estações. Isto pode ser indicativo de que parte dos ovários obtidos procedeu de animais com baixo escore corporal, condição que influencia o descarte destas fêmeas em rebanhos de corte. Ainda, outros fatores predisponentes como a idade, condição clínica geral, problemas de fertilidade que justificam o descarte de fêmeas, independente da condição corporal, somam-se

aos já citados, porém, não poderiam ser controlados e geralmente constituem-se em desafios importantes para o delineamento de estudos desta natureza.

Embora a aparência não assegure a capacidade dos oócitos de se desenvolverem *in vitro*, serve como indicador de sua viabilidade. Isso porque os oócitos dependem do suporte adequado das células do *cummulus*, que têm ligação direta com o ooplasma, permitindo o transporte de nutrientes e sinais que controlam o metabolismo e a maturação nuclear e citoplasmática^{14,32}. Desta forma, a avaliação visual quanto à compactação, quantidade e aparência das células do *cummulus* e uniformidade do citoplasma, tem sido utilizada como meio de selecionar oócitos e classificá-los qualitativamente^{5,24,28}. Neste estudo, classificou-se apenas em dois grupos: oócitos viáveis e degenerados, facilitando uma análise mais ampla. Embora o percentual de oócitos recuperados (percentual de oócitos totais/total de folículos aspirados) tenha sido semelhante, a proporção de oócitos viáveis foi superior na época chuvosa (Fig. 1), estimando-se, assim, que do total de oócitos na época seca, apenas 19,6% foram viáveis contra 35,6% na época chuvosa. Tais diferenças traduzem uma nítida capacidade de recuperação da função gonadal à medida que as condições ambientais tornam-se mais favoráveis. Os estágios de desenvolvimento e crescimento folicular associados ao aumento do número

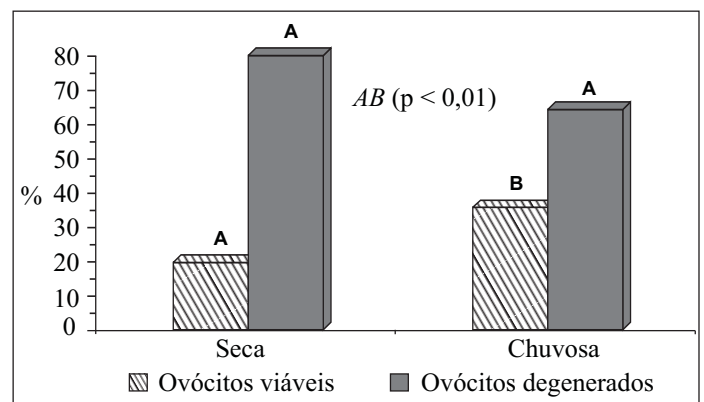


Figura 1

Percentual de oócitos viáveis e degenerados de vacas *Bos indicus* de acordo com a estação do ano no Estado de Mato Grosso do Sul.

de oócitos viáveis estão na dependência de vários fatores intrínsecos que resultam em percentuais mais elevados de estruturas morfológicamente normais^{4,23,25,27}. Em contraste, o percentual de oócitos classificados como degenerados não diferiu significativamente ($p > 0,05$) entre as estações. Estudos *in vitro*⁹ têm mostrado os efeitos do estresse térmico sobre a viabilidade dos oócitos. Mesmo que os efeitos deletérios da alta temperatura ambiental ainda não estejam completamente elucidados, acredita-se que as células do *cumulus* tenham papel fundamental nos processos de termoproteção. A temperatura média na estação chuvosa manteve-se na ordem de 27°C (Tab. 1), indicando que em certos períodos do dia possivelmente atinja valores muito superiores por tempo prolongado, favorecendo as condições degenerativas. Desta forma, considerando que a população de oócitos viáveis foi maior

na estação chuvosa e estruturalmente rica em células do *cumulus*, estes achados podem refletir os mecanismos de termoproteção propostos por Edwards; Hansen⁹, muito embora as condições experimentais sejam diferentes.

Os resultados permitem concluir que a atividade ovariana de vacas *Bos indicus* no Estado de Mato Grosso do Sul está sujeita a importantes modificações ao longo do ano, definindo diferentes padrões de qualidade dos oócitos entre distintas estações. No entanto, este processo é dinâmico e a resposta ovariana está na dependência do efeito de vários fatores associados não controlados neste estudo. A funcionalidade gonadal, estimada pelo número total de oócitos e pelo percentual de viáveis é mais intensa no período chuvoso (novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março), possibilitando maiores chances de concepção.

SUMMARY

The present study evaluated the effect of two seasons of the year (dry and rainy) on the ovarian characteristics of *Bos indicus* slaughter cows in Mato Grosso do Sul, Brazil. Ovaries (n = 10) were collected on November and December of 1998 and from January to October of 1999. In the laboratory the ovaries were evaluated for weight (g), volume (Vol. (cm³) = 3/4 p x length /2 x width/2 x thickness/2), number of corpus luteum, number of follicles ≥ 9 mm of diameter, total number of follicles ≤ 9 mm, number of oocytes viable and degenerated. The main effect of the season (dry or rainy) was estimated by analysis of variance (t test), for completely randomized design. Analysis of simple correlation (*Spearman rank correlations*) was performed among the variables studied, which were adjusted for the season effect. The results demonstrated that the effect of ovaries weight (5.1 x 6.5 g), total follicles (10.1 x 13.7), corpus luteum (0.32 x 0.47, $p < 0.05$) and the frequency of viable oocytes (19.6% x 35.6%) on the total oocytes recovered varied significantly ($p < 0.01$) between the dry and rainy season, respectively. Correlation analysis (r) showed significant coefficients ($p < 0.01$) between weight and volume of the ovaries (r = 0.78), weight and total follicles (r = 0.32), weight and corpus luteum (r = 0.41), total follicles and viable oocytes (r = 0.57), among others. It is concluded that important changes in ovarian function, based on the production and quality of oocytes, can be estimated between the dry and the rainy season. Therefore, based on those characteristics, the rainy season is the most appropriate for implantation of reproductive programs in commercial herds.

UNITERMS: Bovine; Ovaries; Oocytes.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. P.; KOT, K.; SMITH, C. A.; GINTHER, O. J. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifer. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 4, p. 259-271, 1993.
- AYEDEM, O.; HEATH, E. Plasma progesterone concentration in the *Bos taurus* and *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 14, n. 6, p. 411-420, 1980.
- BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 1, p. 9-22, 1995.
- BOSSI, I.; WETTEMANN, R. P.; WWLTY, S. D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L. J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology of Reproduction**, v. 62, n. 5, p. 1436-1444, 2000.
- COSTA, E. P.; VALE FILHO, V. R.; NOGUEIRA, J. C.; SÁ, W. F.; COSTA, A. H. A. Tipos morfológicos de oócitos bovinos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 49, n. 4, p. 417-424, 1997.
- DALE, H. E.; RAGSDALE, A. C.; CHNG, C. S. Effect of constant environmental temperatures, 50° and 80° F on appearance of puberty in beef calves. **Journal Animal Science**, v. 18, p. 1363-1366, 1959.
- DOMÍNGUEZ, M. M. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. **Theriogenology**, v. 43, n. 8, p. 1405-1418, 1995.
- DODE, M. A. N.; UENO, V. G.; RODOVALHO, N. C. M.; EUCLIDES FILHO, K. Efeito da época do ano, estado fisiológico e tamanho dos folículos na quantidade de oócitos obtidos de fêmeas zebuínas. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 24, p. 239, 1996. Suplemento.
- EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. **Molecular Reproduction Development**, v. 46, n. 2, p. 138-145, 1997.
- ERICKSON, B. H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal Animal Science**, v. 25, n. 3, p. 800-805, 1966.
- GALINA, C. S.; ORIHUELA, A. O.; DUCHATEAU, A. Reproductive physiology in Zebu cattle: unique reproductive aspects that affect their performance. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 3, n. 3, p. 619-647, 1987.
- GREENWALD, G. S.; ROY, S. K. Follicular development and its control. In: KOBIL, E.; NEILL, J. D. **The Physiology of reproduction**, 2.ed. New York : Raven Press, 1994. p. 629-724.
- GWAZDAUSKAS, F. C.; WILCOX, C. J.; TATCHER, W. W. Environment and management factors affecting conception rate in a subtropical climate. **Journal Dairy Science**, v. 58, n. 1, p. 88-96, 1975.
- HIRSHFIELD, A. N. Development of follicles in the mammalian ovary. **International Review of Cytology**, v. 124, p. 43-101, 1991.
- HIRSHFIELD, A. N. Granulosa cell proliferation in very small follicles of cycling rats studied by long-term continuous tritiated-thymidine infusion. **Biology of Reproduction**, v. 41, n. 2, p. 309-316, 1989.
- HONER, M. R. **Precipitação pluviométrica na região de Campo Grande, MS: uma análise do período 1970-1991**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPQC, 1993. 46 p. (Documentos, 53).

- 17- IRELAND, J. J.; MURPHEE, R. L.; COULSON, P. B. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. **Journal Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 155-160, 1980.
- 18- JOCHLE, W. Seasonal fluctuations of reproductive functions in Zebu cattle. **International Journal Biometeorology**, v. 16, p. 131-144, 1972.
- 19- KINDER, J. E.; WHYTE, T. R.; CRRED, A.; ASPEN, W. J.; D'OCCHIO, M. J. Seasonal fluctuations in plasma concentrations of luteinizing hormone and progesterone in Brahman (*Bos indicus*) and Hereford-Shortorn (*Bos taurus*) cows grazing pastures at two stocking rates in a subtropical environment. **Animal Reproduction Science**, v. 49, n. 2-3, p. 101-111, 1997.
- 20- LEE, C. N. Environmental stress effects on bovine reproduction. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n. 2, p. 263-273, 1993.
- 21- LOVE, C. P. C.; GARCIA, M. C.; RIERA, F. R.; KENNEY, R. M. Evaluation of measures taken by ultrasonography and caliper to estimate testicular volume and predict daily sperm output in the stallion. **Journal Reproduction and Fertility**, p. 99-105, 1991. Supplement 44.
- 22- LUSSIER, J. G.; MATTON, P.; DUFOUR, J. J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 81, n. 2, p. 301-307, 1987.
- 23- MARIANA, J. C.; MONNIAUX, D.; DRIANCOURT, M. A.; MAULEOW, P. Folliculogenesis. In: CUPPS, P. T. **Reproduction in domestic animals**. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1991. p. 119-171.
- 24- MORENO, J. F.; FLORES-FOXWORTH, G.; WESTHUSIN, M.; KRAEMER, D. C. Influence of pregnancy and presence of a CL on quantity and quality of bovine oocytes obtained from ovarian follicles aspirated post-mortem. **Theriogenology**, v. 39, n. 1, p. 271, 1993.
- 25- MONNIAUX, D.; MARIANA, J. C.; COGNIE Y. et al. Controle de la maturation terminale des follicules au cours de la phase folliculaire chez les mammifères domestiques. **Contracept Fertily Sexual**, v. 21, n. 5, p. 403-407, 1993.
- 26- NELLOR, J. E.; COLE, H. H. The hormonal control of estrus and ovulation in the beef heifer. **Journal Animal Science**, v. 15, n. 3, p. 650-655, 1957.
- 27- OKTAY, K.; SCHENKEN, R. S.; NELSON, J. F. Proliferating cell nuclear antigen marks the initiation of follicular growth in the rat. **Biology of Reproduction**, v. 53, n. 2, p. 295-301, 1995.
- 28- PAVLOK, A.; LUCAS-HAHN, A.; NEMANN, H. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. **Molecular Reproduction and Development**, v. 31, n. 1, p. 63-67, 1992.
- 29- PLASSE, D.; WARNICK, A. L.; KOGER, M. Reproductive behavior *Bos indicus* females in subtropical environment. I. Puberty and ovulation frequency in Brahman and Brahman X British females. **Journal Animal Science**, v. 27, n. 1, p. 94-100, 1968.
- 30- RANDEL, R. D. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v. 21, n. 1, p. 170-185, 1984.
- 31- RHODES, F. M.; FITZPATRICK, L. A.; ENTWISTLE, K. W.; De'ATH, G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **Journal Reproduction Fertility**, v. 104, n. 1, p. 41-49, 1995.
- 32- RICHARDS, J. S.; MIDGLEY Jr., A. R. Protein hormone action: a key to understanding ovarian follicular and luteal cell development. **Biology of Reproduction**, v. 14, n. 1, p. 82-94, 1976.
- 33- RUIZ-CORTEZ, Z. T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v. 54, n. 4, p. 211-220, 1999.
- 34- SCHILLO, K. K.; HANSEN, P. J.; KAMAWANJA, L. A. et al. Influence of season on sexual development in heifers: age at puberty as related to growth and serum concentrations of gonadotrophins, prolactin, thyroxine, and progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 28, n. 2, p. 329-335, 1983.
- 35- VALE FILHO, V. R.; PINHEIRO, L. E. L.; BASRUR, P. K. Reproduction in Zebu cattle. In: MORROW, P. A. **Current therapy in theriogenology**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p.437-442.
- 36- VALLE, E. R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, L. R. L. S. **Estratégias para o aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 80 p. (Documentos, 71).
- 37- VENTROMILA, M. A. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F. Observações qualitativas e quantitativas na população de foliculos de bovinos mestiços Holandês/Zebu. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 3-4, p. 165-172, 1995.
- 38- WANDJI, S. A.; SRSEN, V.; VOSS, A. K.; EPPIG, J. J.; FORTUNE, J. E. Initiation in vitro of growth of bovine primordial follicles. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 5, p. 942-948, 1996.
- 39- ZEITOUN, M. M.; RODRIGUES, H. F.; RANDEL, R. D. Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. **Theriogenology**, v. 45, n. 8, p. 1577-1581, 1996.
- 40- ZIMMER, A. H.; EUCLIDES, V. P. B.; FILHO, K. E.; MACEDO, M. C. M. **Considerações sobre índices de produtividade da pecuária de corte em Mato Grosso do Sul**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 53 p. (Documentos, 70).

Recebido para publicação: 22/11/2000
Aprovado para publicação: 02/07/2001