

ANDRÉ LUCIO FONTANA GOETTEN

**FLAMENGA, UMA RAÇA EM EXTINÇÃO:
CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR
DE BOVINOS DA RAÇA FLAMENGA NO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Reprodução Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Alceu Mezzalira
Coorientador: Valério Marques Portela

**LAGES, SC
2013**

Ficha catalográfica elaborada pelo Bibliotecário
Edson Mario Gavron CRB – 14/1235
(Biblioteca Setorial de Curitiba – UFSC)

G599f

Goetten, André Lucio Fontana

Flamenga, uma raça em extinção : caracterização do desenvolvimento folicular de bovinos da raça Flamenga no Sul do Brasil / André Lucio Fontana Goetten. – 2013.

67 f. ; il. ; 21 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2014.

Bibliografia: f. 63-67

Orientador: Alceu Mezzalira

Coorientador: Valério Marques Portela

1. Conservação – Raça Flamenga. 2. Reprodução. 3. Dinâmica folicular. I. Mezzalira, Alceu. II. Portela, Valério Marques. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. IV. Título.

CDD – 636.08926

©2013

Todos os direitos autorais reservados a André Lucio Fontana Goetten. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

ANDRÉ LUCIO FONTANA GOETTEN

**FLAMENGA, UMA RAÇA EM EXTINÇÃO:
CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR
DE BOVINOS DA RAÇA FLAMENGA NO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Reprodução Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora

Orientador:

Prof. Dr. Alceu Mezzalira
CAV/UDESC

Coorientador:

Prof. Dr. Valério Marques Portela
UFSC

Membros:

Prof. Dr. Marcos Henrique Barreta
UFSC

Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin
UFPEL

Lages (SC), 01/11/2013

A meus filhos, Áquila Jasmine e Arthur
Henrique...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente na minha vida e por ter colocado pessoas maravilhosas no meu caminho profissional e pessoal.

Aos meus pais Altamir e Lela pelo apoio e suporte que sempre me deram.

A Lili pelo carinho, apoio e, principalmente, pela compreensão nos momentos que não lhe dei a atenção merecida.

Ao meu amigo e Coorientador Prof. Valério Portela por ter sido o mentor e grande incentivador desse projeto.

Ao meu Orientador Prof. Alceu Mezzalira pela oportunidade concedida.

Ao colega Fabiano Zago pelo auxílio na condução inicial do experimento.

Aos acadêmicos de Ciências Rurais, Samara e Roger, que mesmo com chuva e frio me acompanharam em todos os dias do experimento.

Aos funcionários da EEL/EPAGRI, Claudio e Vieira, pelo auxílio no manejo dos animais.

A EEL/EPAGRI, por fornecer os animais, o espaço físico e os funcionários que colaboraram diariamente.

Ao Prof. Mario Binelli da USP e ao Prof. Guilherme de Paula Nogueira da UNESP – Campus Araçatuba, o primeiro por fornecer os kits e o segundo por ter realizado os ensaios para determinação da Progesterona.

“Chegar ao objetivo é importante se assimilamos as lições aprendidas durante o percurso. A conquista, além disso, transforma-se em um ponto de partida para iniciar outra busca e continuar aprendendo.”

Paulo Coelho

RESUMO

GOETTEN, André Lucio Fontana. **Flamenga, uma raça em extinção:** caracterização do desenvolvimento folicular de bovinos da raça Flamenga no Sul do Brasil. 2013. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área de Concentração: Reprodução Animal) Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2013.

Em função da drástica redução no número de animais, a raça Flamenga corre risco de extinção. Este estudo teve objetivo de gerar conhecimento sobre o perfil de desenvolvimento folicular e de Progesterona sérica (P_4) hormonal em fêmeas da raça Flamenga criadas no Sul do Brasil, visando subsidiar a escolha das biotécnicas reprodutivas mais apropriadas para multiplicação desta raça. Dois grupos de fêmeas púberes, não lactantes com idade variando entre quatro e seis anos, Flamenga (FLA, $n=7$) e Holandesa (HOL, $n=7$), tiveram seus estros sincronizados com Cloprostenol. A partir do estro, os ovários foram avaliados a cada 24 horas por ultrassonografia transretal até que a segunda ovulação fosse detectada. Os diâmetros do folículo dominante (FD) e do subordinado (FS) foram registrados em função do dia do ciclo. Foram avaliados o diâmetro do FD e do FS na emergência folicular, o dia e o diâmetro do FD na divergência, o crescimento diário de FD e FS, o diâmetro máximo do folículo ovulatório e do dominante não ovulatório. Amostras de sangue foram coletadas a cada cinco dias para dosagem de progesterona sérica (P_4) por radioimunoensaio. Nenhuma das variáveis avaliadas no grupo FLA diferiu significativamente do grupo HOL ou dos valores descritos para outras raças taurinas. Na emergência da onda os FD mediram $3,97 \pm 0,19$ mm para vacas Flamengas e de $4,00 \pm 0,35$ mm para as Holandesas, enquanto o FS chegou a $3,40 \pm 0,22$ mm nas Flamengas e $3,07 \pm 0,26$ mm nas Holandesas. O crescimento folicular diário das Flamengas foi de $1,10 \pm 0,04$ mm para o FD e de $0,67 \pm 0,06$ mm para o FS; já nas Holandesas o crescimento diário foi de $1,01 \pm 0,05$ mm para o FD e de $0,72 \pm 0,09$ mm para o FS. Desde a emergência o FD foi maior que o FS e a divergência ocorreu no terceiro dia, com o FD medindo $8,04 \pm 0,37$ mm e $8,39 \pm 0,47$, em Flamengas e Holandesas, respectivamente. O diâmetro máximo do folículo ovulatório em vacas Flamengas foi de $13,16 \pm 0,33$ mm e o valor médio do diâmetro máximo do folículo dominante não ovulatório foi de $13,01 \pm 0,48$ mm. Vacas Holandesas apresentaram valores de $14,20 \pm 0,60$ mm e $13,00 \pm 0,59$ mm, respectiva-

mente, para as mesmas medidas. Estes valores estão de acordo com os normalmente aceitos para raças taurinas, situados entre 13 – 20 mm. A concentração de progesterona sérica ajustou-se a um modelo cúbico de regressão e, em vacas Flamengas variou de $0,155 \pm 0,016$ ng/ml até $6,651$ ng/ml $\pm 1,868$ ng/ml. Para vacas Holandesas os limites da concentração da progesterona oscilaram entre $0,300 \pm 0,048$ ng/ml e $5,957 \pm 1,233$ ng/ml. Conclui-se que vacas da raça Flamengo possuem desenvolvimento folicular e perfil de P₄ semelhantes ao de vacas Holandesas, sugerindo ser possível a utilização das biotecnologias reprodutivas aplicáveis em animais da raça Holandesa em animais da raça Flamengo.

Palavras-chave: Conservação. Reprodução. Dinâmica folicular

ABSTRACT

GOETTEN, André Lucio Fontana. **Flemish Red, an endangered breed:** characterization of the bovine breed's follicular development in Southern Brazil. 2013. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área de Concentração: Reprodução Animal) Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2013.

Due to the drastic reduction of the number of animals, the Flemish Red breed is endangered. This study aims to generate knowledge on the follicular development and serum progesterone (P4) profiles in females of the Flemish Red breed, created in Southern Brazil, in order to subsidize the choice of reproductive biotechniques more adequate for the reproduction of the breed. Two groups of non-lactating pubescent females with ages between four and six years old, Flemish Red (FLE, n=7) and Holstein (HOL, n=7), received two doses of Sodium Cloprostenol in order to synchronize their estrus. Starting from the estrus, the ovaries were assessed through the use of transrectal ultrasound every 24 hours for 21 days or until the second ovulation was detected. The diameter of the dominant follicle (DF) and the subordinate follicle (SF) were recorded according to the day of the cycle. The diameter of the DF and the SF were assessed when the follicle emerged, the day and the diameter of the DF in the divergence, the daily growth of the ovulatory follicle and the non-ovulatory dominant follicle (NODF). Blood samples were collected every five days for P4 administration by radioimmunoassay. None of the variables assessed in the FLE group differed significantly of the HOL group or of the values described for other European cattle breeds. In wave emergence DF measured 3.97 ± 0.19 mm for FLE and 4.00 ± 0.35 mm for the HOL, while the SF reached 3.40 ± 0.22 mm in FLE and 3.07 ± 0.26 mm in the HOL. The FLE daily growth rate was 1.10 ± 0.04 mm for DF and 0.67 ± 0.06 mm for the SF, whereas the HOL daily growth rate was 1.01 ± 0.05 mm for DF and 0.72 ± 0.09 mm for the SF. Since the emergence DF was larger than the SF and divergence occurred on the third day, with the DF measuring 8.04 ± 0.37 mm and 8.39 ± 0.47 in FLE and HOL, respectively. The maximum diameter of the ovulatory follicle in FLE cows was 13.16 ± 0.33 mm and the average maximum diameter of the non-ovulatory dominant follicle was 13.01 ± 0.48 mm. Holstein cows showed values of 14.20 ± 0.60 and 13.00 mm

± 0.59 mm , respectively, for the same measurements . These values are in accordance with generally accepted for European breeds, situated between 13-20 mm . The P4 concentration was adjusted to a cubic regression , and in FLE group ranged from 0.155 ± 0.016 ng/ml to 6.651 ± 1.868 ng/ml. In HOL group, P4 ranged from 0.300 ± 0.048 ng/ml to 5.957 ± 1.233 ng/ml. The conclusion was that cows of the Flemish Red breed have similar follicle development and P4 profile to the Holstein cows, which suggests it is possible to use reproductive biotechnologies applicable to animals of the Holstein breed in animals of the Flemish Red breed.

Palavras-chave: Conservation. Reproduction. Follicle Dynamics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Perfil de crescimento do folículo dominante (FD) em vacas Flamengas e Holandesas durante o ciclo estral..... 58
- Figura 2 – Perfil de crescimento do maior folículo subordinado (FS) em vacas Flamengas e Holandesas durante o ciclo estral..... 59
- Figura 3 – Concentração Progesterona Sérica de vacas Flamengas e Holandesas durante o ciclo estral..... 60
- Figura 4 – Diferença entre os dois maiores folículos presentes no ovário de vacas Flamengas e Holandesas, por dia do ciclo estral.. 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
EEL	Estação Experimental de Lages
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FD	Folículo dominante
FDNO	Folículo dominante não ovulatório
FLA	Grupo Flamengas
FS	Folículo subordinado
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
HOL	Grupo das Holandesas
LH	Hormônio Luteinizante
P ₄	Progesterona
RIA	Radioimunoensaio
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UNESP	Universidade Estadual Paulista

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 CARACTERIZAÇÃO E SITUAÇÃO DA RAÇA FLAMENGA ..	23
2.2 CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS ANIMAIS DE INTERESSE ZOOTÉCNICO	24
2.3 DINÂMICA FOLICULAR EM BOVINOS	27
2.3.1 Emergência da onda folicular	27
2.3.2 Seleção folicular	28
2.3.3 Dominância	29
3 CAPÍTULO 1 - FLAMENGA, UMA RAÇA EM EXTINÇÃO: CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR DE BOVINOS DA RAÇA FLAMENGA NO SUL DO BRASIL	31
Introdução.....	35
Materiais e métodos	39
Local e período do experimento	39
Animais	40
Protocolo de sincronização e detecção do estro	40
Avaliações ultrassonográficas	41
Coleta de sangue e dosagem das concentrações séricas de progesterona (P ₄)	41
Análise estatística dos dados	42
Resultados e discussão	43
Conclusão	48
Agradecimentos	48
Referências.....	49
4 CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

A produção pecuária faz parte do contexto histórico, social e econômico da Região do Planalto Catarinense. Contudo, a maioria dos estabelecimentos apresenta solos ácidos, com alto poder tamponante e baixos níveis de nutrientes, o que dificulta a implantação de pastagens e a produção de outros alimentos destinados a pecuária. Soma-se a essa dificuldade a grande variabilidade nos níveis tecnológicos adotados, de modo que propriedades especializadas coexistem com número considerável de outras propriedades que operam em baixos níveis tecnológicos, explorando a bovinocultura mista como mecanismo de diversificação da produção (SOUSA; SANTOS; SILVA JR., 2005; THALER NETO *ET AL.*, 1996). Dessa forma, faz-se necessário estudar opções de raças de bovinos para estes produtores menos especializados. Segundo Thaler Neto *et al.* (1996), dentre as alternativas disponíveis encontra-se a Flamengo, raça com maior aptidão para exploração leiteira, mas que, em virtude de ser uma raça mista, oferece condições para exploração dos machos para produção de carne, contribuindo para um melhor desempenho econômico, particularmente nas pequenas propriedades que operam sob o regime de exploração familiar.

A crescente demanda de produtos de origem animal tem gerado muitas tentativas de aumentar a produtividade de raças consideradas naturalizadas, por meio de cruzamentos com raças exóticas altamente produtivas (MARIANTE; CAVALCANTE, 2006). Na França, seu país de origem, a raça Flamengo tem sido cruzada com animais vermelhos Belgas e Dinamarqueses, ocasionando uma drástica diminuição na quantidade de animais puros registrados, fato determinante para inclusão da raça Flamengo na lista das raças em risco de extinção da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) (FAO, 2000). No Brasil, o único rebanho de animais puros da raça é composto por cerca de apenas 50 animais, mantidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) (ZAGO *ET AL.*, 2010).

A preservação da biodiversidade e dos recursos genéticos, assim como a necessidade de se traçar planos e estratégias para o uso sustentável dessa atividade, é uma meta de grande importância para pesquisadores e entidades públicas e privadas de todo mundo. No que se refere a animais de interesse zootécnico, a manutenção de diversas raças é um passo importante para a conservação de alelos e para o sucesso no longo prazo dos programas de melhoramento animal, já que raças diferencia-

das são bancos de reserva genética de alelos diversos, proporcionando uma reserva estratégica para que se possam atender novos direcionamentos na produção animal (COSTA, 2005; GONÇALVES; FIGUEIREDO; FREITAS, 2008). Assim, convive-se, hoje, com o duplo desafio de produzir para satisfazer a uma demanda crescente e, ao mesmo tempo, promover a conservação e o uso sustentável dos recursos insubstituíveis, de forma a prevenir, conter e, mesmo, reverter a tendência a erosão da diversidade.

A reprodução é a base para a sobrevivência de qualquer espécie e seu estudo é fundamental para conservá-las. O incremento no desempenho reprodutivo é um dos fatores que determinam o sucesso de espécies ameaçadas e, nesse ponto, entram em cena as biotécnicas reprodutivas como a inseminação artificial, a criopreservação de gametas e embriões, a fertilização *in vitro*, a transferência de embriões e até mesmo, em casos específicos, a clonagem. Porém, para que estes recursos possam ser utilizados de forma consistente e produtiva, é imperativo que sejam desenvolvidas pesquisas básicas visando ao conhecimento dos mecanismos e estruturas envolvidas na reprodução (GONÇALVES; FIGUEIREDO; FREITAS, 2008). Um importante tema de estudo dentro da esfera reprodutiva está relacionado ao desenvolvimento folicular e, como as informações a respeito da Raça Flamenga são escassas, esforços no sentido de elucidar os fenômenos que regem seu ciclo reprodutivo são necessários e urgentes a fim de impedir seu desaparecimento. Portanto, a necessidade de ampliação de conhecimentos fisiológicos para o melhor desenvolvimento e conservação da raça, motivou a realização deste estudo que teve por objetivo descrever o desenvolvimento folicular durante o ciclo estral de um rebanho de vacas Flamengas adaptadas as condições edafoclimáticas locais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARACTERIZAÇÃO E SITUAÇÃO DA RAÇA FLAMENGA

Os bovinos Flamengos compõem uma das raças mais antigas da França e fazem parte do grupo de raças vermelhas das planícies do Norte da Europa. Apresentam pelagem que vai da vermelha com nuances pardas até a vermelha escura, normalmente com a cabeça mais escura que o corpo (ELIAS, 2006). A raça é de duplo propósito, com maior aptidão leiteira, apresentando registros de produção média por lactação de aproximadamente 3.600 Kg no Brasil (THALER NETO *ET AL.*, 1996) e de 5.700 Kg na França (FRANCE GÉNÉTIQUE ELEVAGE, 2013). O leite produzido apresenta 3,97% de gordura e 3,41% de proteína e é utilizado na fabricação de vários queijos regionais da França. No abate, os machos apresentam bom rendimento de carcaça, produzindo carne densa e bem característica e com bom valor agregado (FRANCE GÉNÉTIQUE ELEVAGE, 2013).

A Associação Nacional dos Criadores “Herd-Book Collares” destaca na raça Flamengo a facilidade de parto, a fertilidade, a longevidade, a rusticidade, a precocidade sexual, o ganho de peso, e as altas porcentagens de gordura e proteína do leite. O Herd-Book da raça foi aberto em 1886 na França e o Livro de Registro no Brasil foi aberto em 1945, ocasião em que se estabeleceu um núcleo de animais na cidade de Lages (SC). Este núcleo de produção é mantido até hoje pela EPAGRI (ELIAS, 2006).

Na França, a raça Flamengo tem sido cruzada com animais vermelhos Belgas e Dinamarqueses, ocasionando uma drástica diminuição na quantidade de animais puros registrados. A consequência desses cruzamentos pode ser medida em números: em 1968 o rebanho francês possuía cerca de 230 mil reses Flamengas, das quais apenas 12 mil estavam inscritas no Livro Genealógico, já em 1988 foram inscritos apenas 674 animais no Herd-Book Francês (ELIAS, 2006).

Esse declínio acentuado foi determinante para inclusão da raça Flamengo na lista das raças em risco de extinção da FAO, entidade que no ano de 1997 estimou-se em 300 o número de fêmeas Flamengas na França, das quais somente 180 foram registradas (FAO, 2000), já que, segundo Henson (1992), para raças domésticas, as populações são consideradas como em risco de extinção quando existem menos de 1000 fêmeas ou 20 machos férteis.

Desde o final da década de 1970, devido ao pequeno tamanho de sua população, a raça Flamengo é alvo de um Programa de Conservação, com o apoio financeiro do Ministério da Agricultura da França e do Conselho Regional Nord-Pas-de-Calais. Inicialmente, o objetivo deste programa era simplesmente fazer um levantamento dos animais e criadores para evitar o desaparecimento da raça, no entanto, gradativamente o objetivo foi sendo ampliado. Num primeiro momento, na tentativa de melhorar características como a produção de proteína, altura e características de úbere, e, em seguida, para melhorar a viabilidade econômica da produção pecuária com esta raça, especialmente através do desenvolvimento de produtos específicos de alto valor agregado. O caminho escolhido pela Associação de Criadores da Raça Flamengo foi a introdução de genes de outras raças vermelhas, principalmente pela utilização de inseminação artificial utilizando sêmen de touros vermelhos belgas e dinamarqueses (LAUVIE *ET AL.*, 2008).

Recentemente, em seu país de origem, a raça vem experimentando um ressurgimento de popularidade, em função de sua adaptabilidade na região de origem e aos altos teores de proteína no leite. Dessa forma, os produtores associados obtiveram certificado de Denominação de Origem Controlada para o queijo Bergues produzido a partir de leite de vacas Flamengas. A utilização de touros Vermelhos Dinamarqueses está sendo feita com mais moderação e os touros inscritos no programa de teste de progênie devem ter linhagem materna francesa, com o objetivo de diminuir o sangue dinamarquês para cerca de 25% (FRANCE GÉNÉTIQUE ELEVAGE, 2013).

Aqui no Brasil, os animais remanescentes do grupo original compõem um rebanho de cerca de 50 animais nas diversas categorias e permanecem na Estação Experimental de Lages (EEL) da EPAGRI. Esses animais vêm sendo objeto de pesquisas que já produziram embriões *in vivo* e *in vitro* e animais clonados (MEZZALIRA *ET AL.*, 2012; ZAGO *ET AL.*, 2010).

2.2 CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS ANIMAIS DE INTERESSE ZOOTÉCNICO

Os recursos genéticos animais, representados por uma vasta gama de raças e populações, ao longo dos séculos evoluíram e se adaptaram as mais distintas condições ambientais em todo o planeta. A pressão de seleção imposta por condições edafoclimáticas, altitude, parasitismo, e disponibilidade alimentar, entre outros fatores ambientais, re-

sultaram em milhares de raças, tipos e variedades, cada um adaptado a um nicho específico e com seu próprio *pool* genético. Contudo, este processo foi fortemente alavancado por fatores antropogênicos no intuito de fornecer carne, produtos lácteos, ovos, fibras e força de trabalho influenciado por preferências mercadológicas e regionais (EGITO; MARIANTE; ALBUQUERQUE, 2002; FAO, 2007a; GROENEVELD *ET AL.*, 2010; HENSON, 1992).

Segundo Andrabi e Maxwell (2007) muitos tipos, raças e espécies já não existem visto que a extinção de espécies/raças animais no decurso da vida em nosso planeta faz parte do processo natural de evolução e, uma vez ocorrido, é irreversível. Além disso, os fatores que promovem a extinção e desaparecimento de variedades domésticas estão intimamente relacionados com os descritos para as espécies selvagens, entretanto, tal como acontece com as espécies selvagens, desde que a taxa de extinção seja semelhante a taxa de criação de novas variedades, essa dinâmica não deve ensejar preocupação (HENSON, 1992). Porém, admitindo-se que a variedade de tipos e raças existentes, assim como a variação presente dentro de cada uma são reflexos da diversidade genética dentro das espécies domésticas, a perda de um único tipo ou raça compromete o acesso a seus genes e combinações genéticas únicas que podem ser úteis para atender novos direcionamentos na produção animal ou reagir no caso do surgimento de novas doenças infecciosas (BOETTCHER *ET AL.*, 2010; COSTA, 2005; EGITO; MARIANTE; ALBUQUERQUE, 2002; HENSON, 1992).

Nos últimos anos, a preocupação com o bem-estar animal e com o futuro do meio ambiente global cresceu a um nível sem precedentes. Entre as principais preocupações está o rápido incremento na taxa de desaparecimento de grupos de animais, sobretudo nos últimos 100 anos, o qual não foi acompanhado na mesma intensidade pelo surgimento de novas variedades. Como consequência, houve uma dramática redução na variação genética (HENSON, 1992; HOLT; PICKARD, 1999; SOUZA *ET AL.*, 2011).

De acordo com Taberlet *et al.* (2011), esse problema agravou-se já no século XVIII, com o surgimento do conceito de raça. A partir daí, a pressão de seleção aumentou drasticamente e a reprodução entre raças foi seriamente reduzida, resultando em rebanhos cada vez mais uniformes. Isso ocasionou uma grande fragmentação das populações originais. Em um período mais recente intensificou-se a seleção para produtividade, gerando raças cada vez mais especializadas e determinando o desinteresse por raças autóctones menos produtivas. Como consequência

várias raças locais foram extintas e outras estão ameaçadas de extinção (ANDRABI; MAXWELL, 2007; GROENEVELD *ET AL.*, 2010).

A conservação dos recursos genéticos animais é considerada essencial para conter a rápida perda de variedades através de diluição genética ou da substituição de raças por outras mais produtivas (GROENEVELD *ET AL.*, 2010; HENSON, 1992). Além disso, a preservação de raças locais é importante para a manutenção de tradições culturais, tais como a fabricação de produtos típicos por pequenos produtores, associadas aos costumes regionais (BOETTCHER *ET AL.*, 2010; COSTA, 2005).

Recentemente constatou-se que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são inseparáveis. Deste modo, a visão conservacionista atual é a de manter a diversidade genética máxima de cada espécie prevendo necessidades para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis, uma vez que não é possível prever com objetividade quais características podem ser necessárias no futuro (EGITO; MARIANTE; ALBUQUERQUE, 2002).

O grande desafio para pesquisadores, entidades públicas e privadas e setor produtivo é equilibrar diferentes objetivos políticos, tais como a manutenção da diversidade genética animal e integridade ambiental, atendendo a crescente demanda por produtos de origem animal, respondendo as novas exigências do consumidor, garantindo a segurança alimentar e contribuindo para o desenvolvimento rural e do combate a fome e a pobreza (BOETTCHER *ET AL.*, 2010; FAO, 2007b; MARIANTE; CAVALCANTE, 2006).

O objetivo da conservação de pequenos rebanhos ou grupos de animais em extinção é manter e, se possível, aumentar a biodiversidade (LEON-QUINTO *ET AL.*, 2009). Idealmente, uma estratégia efetiva de conservação deveria envolver a preservação do habitat natural (COMIZZOLI; MERMILLOD; MAUGET, 2000; LOI *ET AL.*, 2001). A abordagem de conservação *in situ* permite que as populações sejam mantidas e se desenvolvam no ambiente em que estão bem adaptadas, no entanto, as estratégias de conservação *in situ* são, muitas vezes, insuficientes para a propagação de pequenas populações, bem como para a manutenção da diversidade genética adequada (ANDRABI; MAXWELL, 2007; COMIZZOLI; MERMILLOD; MAUGET, 2000).

É do conhecimento comum que as biotecnologias reprodutivas têm sido aplicadas em diversas espécies, gerando benefícios claros na conservação de animais domésticos e selvagens (SOLTI *ET AL.*, 2000; SOUZA *ET AL.*, 2011), por isso programas de conservação *in situ* e *ex situ* podem ser beneficiados por biotécnicas como inseminação artificial,

transferência de embriões, fertilização *in vitro*, micromanipulação de gametas e embriões, sexagem fetal e embrionária e, mais recentemente, a clonagem por transferência nuclear de células somáticas ou embrionárias. A utilização dessas técnicas permite a produção de um número maior de descendentes e uma redução no intervalo entre gerações (ANDRABI; MAXWELL, 2007; COMIZZOLI; MERMILLOD; MAUGET, 2000; GROENEVELD *ET AL.*, 2010).

Resultados satisfatórios da utilização dessas técnicas de reprodução assistida dependem de amplo conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva de cada grupo de interesse já que existem diferenças entre espécies distintas e também entre grupos de uma mesma espécie (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007; COMIZZOLI; MERMILLOD; MAUGET, 2000; SOUZA *ET AL.*, 2011). Portanto, a compreensão dos fenômenos fisiológicos de cada raça associados ao crescimento folicular é fundamental para otimizar as biotécnicas da reprodução (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007) e, em diferentes níveis, assegurar o sucesso em programas de conservação de recursos genéticos animais.

2.3 DINÂMICA FOLICULAR EM BOVINOS

Depois da puberdade as fêmeas bovinas entram em um período de ciclicidade reprodutiva decorrente de uma complexa interação neuro-endócrina, coordenada por interações entre os eixos hipotálamo-hipofisário e ovário-uterino. Estes períodos com marcada atividade gonadal são indicativos de ciclo estral e consistem em uma série de eventos que ocorrem entre dois estros consecutivos (SARTORI; BARROS, 2011). Os ciclos, que em média repetem-se a cada 21 dias, são caracterizados pelo crescimento e regressão de folículos e corpos lúteos num padrão em forma de ondas (GINTHER; KASTELIC; KNOF, 1989; SAVIO *ET AL.*, 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988) A onda folicular consiste em um período de emergência de um grupo de pequenos folículos, a seleção de um folículo dominante (FD) com consequente atresia dos demais folículos e, finalmente, a atresia ou ovulação do FD.

2.3.1 Emergência da onda folicular

A emergência de uma onda folicular é caracterizada por uma fase de crescimento comum de um grupo de pequenos folículos por cerca de dois a três dias, relacionado com o aumento nas concentrações de Hormônio Folículo Estimulante (FSH). Isso marca o início da de-

pendência gonadotrófica para o desenvolvimento folicular (ADAMS *ET AL.*, 1992; GINTHER *ET AL.*, 2003; GINTHER *ET AL.*, 2002).

A regressão do antigo FD durante a onda de crescimento, ou a ovulação ao final do ciclo estral anterior causa uma elevação do FSH circulante que, por sua vez, estimula o crescimento e proliferação celular nos folículos, aumentando sua capacidade esteroidogênica (ADAMS *ET AL.*, 1992). O aumento transitório de FSH, responsável pelo desencadeamento do crescimento folicular atinge seu pico quando os folículos estão com cerca de 4 – 5 mm de diâmetro, por volta de 28 horas depois do estabelecimento do estro (KULICK *ET AL.*, 2001; MIHM *ET AL.*, 2002). Segundo Ginther *et al.* (2001), o futuro FD emerge 6 horas mais cedo que os outros folículos da onda e isso resulta em uma vantagem no final da fase de crescimento comum, já que estará com maior tamanho que os folículos subordinados (FS).

A medida que os folículos crescem, também aumentam as concentrações de estradiol e inibina no líquido folicular. Via retroalimentação negativa, estradiol e inibina suprimem a liberação de FSH pela hipófise, reduzindo a concentração de FSH a níveis basais apesar destes folículos ainda serem dependentes de FSH para continuar seu crescimento (KULICK *ET AL.*, 1999).

2.3.2 Seleção folicular

Durante cada onda de crescimento folicular em espécies monovulatórias, os folículos recrutados estão sujeitos a um processo de seleção em que normalmente um único folículo se desenvolve até FD, enquanto que os folículos remanescentes regridem (GINTHER, 2000).

Quando o FD da onda, após 2 – 3 dias de crescimento, atinge um diâmetro de cerca de 8,5 mm, uma diferenciação aparece entre o futuro FD e os folículos subordinados remanescentes caracterizando a divergência (desvio) folicular (GINTHER *ET AL.*, 1996). O momento da divergência de um animal pode ser determinado subjetivamente por meio da inspeção visual do perfil de crescimento de seus dois maiores folículos já que, desse instante em diante, o FD mantém seu crescimento enquanto o FD para de crescer ou inicia sua regressão. Portanto, o ponto em que as curvas de crescimento dos dois maiores folículos começam se afastar corresponde ao início da divergência (GINTHER *ET AL.*, 1996).

Bergfelt *et al.* (2003) desenvolveram um método menos subjetivo para determinação do início da divergência utilizando um modelo

de regressão segmentada, o qual já foi testado em *Bos taurus* e em *Bos indicus* (SARTORELLI *ET AL.*, 2005).

A seleção do folículo dominante está associada ao declínio dos níveis de FSH na circulação durante os três primeiros dias da onda. Folículos pequenos da onda emergente (ou seja, < 6 mm) são dependentes de concentrações elevadas de FSH circulante para continuar se desenvolvendo – em face ao declínio do FSH após o pico, eles atingem um platô e começam a regredir dentro de 2 a 5 dias. De maneira oposta, o folículo destinado a tornar-se dominante pode manter a proliferação celular e a produção de estradiol apesar do declínio na concentração do FSH (ADAMS; JAISWAL, 2008).

É sabido que o FD sofre uma transição na dependência de FSH para Hormônio Luteinizante (LH) (MIHM *ET AL.*, 2006), por meio do qual o FD é capaz de sobreviver e maturar mesmo em baixos níveis de FSH circulante. Em novilhas os receptores de LH emergem nas células da granulosa do futuro FD 8 horas antes do início do desvio e em folículos bovinos em geral, receptores de LH aparecem quando os folículos atingem 8 mm de diâmetro, corroborando a informação que o maior tamanho inicial do futuro FD representa vantagem no momento da divergência (GINTHER *ET AL.*, 2001). Entretanto, mesmo durante a dominância, níveis basais de FSH permanecem criticamente importantes para o FD. Uma redução nos níveis circulantes de FSH pode resultar em parada no desenvolvimento do FD em bovinos, e na regressão do FD em algumas espécies (TURZILLO; FORTUNE, 1993).

2.3.3 Dominância

A dominância folicular é o meio pelo qual um folículo selecionado sobrepõe-se ao demais, suprimindo o crescimento dos mesmos e inibindo o recrutamento de um novo grupo de folículos. Pode ser percebida em três níveis: morfológicamente pelo tamanho do FD através do modo B da ultrassonografia, fisiologicamente pelo fluxo sanguíneo usando imagens ultrassônicas no modo Doppler colorido, e endocrinologicamente avaliando as concentrações hormonais no fluido folicular (PETER *ET AL.*, 2009). A dominância fisiológica/endocrinológica também pode ser percebida pela influencia negativa que o FD exerce sobre os demais folículos da onda e sobre o surgimento da onda subsequente (ADAMS *ET AL.*, 2008; EVANS, 2003; FORTUNE *ET AL.*, 2001; GINTHER *ET AL.*, 1996).

Convencionou-se que um folículo é considerado dominante quando atinge diâmetro ≥ 10 mm (GINTHER *ET AL.*, 2003). A dominância também pode ser definida pelo tamanho do folículo na divergência, já que o maior folículo nesse momento será o FD, ou pela aquisição da capacidade ovulatória, como reportado por (GIMENES *ET AL.*, 2008). O diâmetro máximo do FD pode chegar, em condições normais, a cerca de 16 mm em taurinos e 11 mm em zebuínos (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Durante a dominância o FD sofre alterações funcionais, como o declínio da razão intrafolicular estrógeno:progesterona, preparando-se para uma eventual ovulação (MIHM *ET AL.*, 2006). A ovulação depende da ação do LH, que tem sua liberação mediada pelo Hormônio Liberador das Gonadotrofinas (GnRH). Dependendo da frequência pulsátil, o GnRH pode estimular a liberação de LH (frequência alta) ou de FSH (frequência baixa)(AERTS; BOLS, 2010). A progesterona é um agente inibitório da pulsatilidade do GnRH enquanto que altas concentrações de estrógenos tem efeito positivo na frequência dos pulsos do GnRH (WILTBANK; GUMEN; SARTORI, 2002). Dessa forma, quando se desenvolve durante a fase luteal do ciclo estral, o FD torna-se atrésico em função dos níveis elevados de progesterona. Do contrário, quando não há um corpo lúteo funcional, a pulsatilidade de GnRH estará aumentada, culminando na ovulação do FD.

3 CAPÍTULO 1

FLAMENGA, UMA RAÇA EM EXTINÇÃO: CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR DE BOVINOS DA RAÇA FLAMENGA NO SUL DO BRASIL

André Lucio Fontana Goetten, Alceu Mezzalira, Fabiano Carminatti
Zago, Valério Marques Portela

Artigo a ser submetido para publicação

1 **Flamenga, uma raça em extinção: caracterização do desenvolvimen-**
2 **to folicular de bovinos da raça Flamenga no Sul do Brasil¹**

3 André Lucio Fontana Goetten^{2,3}, Alceu Mezzalira³, Fabiano Carminatti
4 Zago⁴, Valério Marques Portela^{1,2}

5 ¹Correspondência: Valério Marques Portela, Departamento de Ciências
6 Biológicas e Veterinárias, Centro de Ciências Rurais, Universidade
7 Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Rod. Ulisses Gaboardi,
8 km 3, CEP: 89.520-000, Curitibanos, SC, Brasil.

9 E-mail: valerio.portela@ufsc.br

10

11 **Short Title:** Desenvolvimento folicular em vacas Flamengas

12 **Notas de rodapé:**

13 ² Departamento de Ciências Biológicas e Veterinárias, Centro de Ciên-
14 cias Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitiba-
15 nos, Curitibanos, SC, Brasil

16 ³ Laboratório de Reprodução Animal “Professor Assis Roberto de
17 Bem”, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, Universidade do
18 Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, SC, Brasil

19 ⁴Estação Experimental de Lages, EPAGRI, Lages, SC, Brasil

20

21 **Resumo**

22 Em função da drástica redução no número de animais, a raça Flamengo
23 corre risco de extinção. Este estudo teve o objetivo de gerar conheci-
24 mento sobre o perfil de desenvolvimento folicular e de progesterona
25 sérica (P_4) em fêmeas da raça Flamengo criadas no Sul do Brasil, visan-
26 do subsidiar a escolha das biotécnicas reprodutivas mais apropriadas
27 para a multiplicação desta raça. Dois grupos de fêmeas púberes, não
28 lactantes com idade variando entre quatro e seis anos, Flamengo (FLA,
29 $n=7$) e Holandesa (HOL, $n=7$), receberam duas doses de Cloprostenol
30 Sódico, com 11 dias de intervalo, a fim de terem seus estros sincroniza-
31 dos. A partir do estro os ovários foram avaliados a cada 24 horas, atra-
32 vés da ultrassonografia transretal, durante 21 dias ou até que a segunda
33 ovulação fosse detectada. Os diâmetros do folículo dominante (FD) e do
34 folículo subordinado (FS) foram registrados em função do dia do ciclo.
35 Foram avaliados o diâmetro do FD e do FS na emergência folicular, o
36 dia e o diâmetro do FD na divergência, o crescimento diário de FD e FS,
37 o diâmetro máximo do folículo ovulatório e do folículo dominante não
38 ovulatório (FDNO). Amostras de sangue foram coletadas a cada cinco
39 dias para dosagem P_4 por radioimunoensaio. Nenhuma das variáveis
40 avaliadas no grupo FLA diferiu significativamente do grupo HOL ou
41 dos valores descritos para outras raças taurinas. Desde a emergência o

42 FD foi maior que o FS, a divergência ocorreu no terceiro dia após a
43 emergência, a taxa de crescimento do FD foi acompanhada pelo cresci-
44 mento do FS até a divergência, quando este reduziu o crescimento ou
45 parou de crescer. O diâmetro máximo do folículo ovulatório não diferiu
46 do FDNO. Conclui-se que vacas da raça Flamengo possuem desenvol-
47 vimento folicular e perfil de P₄ semelhantes ao de vacas holandesas,
48 sugerindo ser possível a utilização das biotecnologias reprodutivas apli-
49 cáveis em animais da raça Holandesa em animais da raça Flamengo.

50 **Palavras-chave:** Conservação; Reprodução; Dinâmica Folicular.

51 **Introdução**

52 Por milhares de anos, desde a domesticação, os animais de inte-
53 resse zootécnico deram origem a várias populações de animais adapta-
54 dos aos mais variados ambientes por conta da influência de fatores am-
55 bientais e antropológicos que exerceram baixa pressão de seleção
56 (EGITO; MARIANTE; ALBUQUERQUE, 2002; FAO, 2007; HENSON,
57 1992). Durante todo esse tempo, vários desses grupos surgiram e outros
58 tantos desapareceram de forma definitiva num processo evolutivo natu-
59 ral (ANDRABI; MAXWELL, 2007), além disso, desde que a taxa de extin-
60 ção seja semelhante a taxa de surgimento de novas variedades, essa
61 dinâmica não deve ensejar maiores preocupações (HENSON, 1992).

62 Essa situação mudou drasticamente nos últimos séculos, a partir
63 do surgimento do conceito de raça e das entidades de raças (TABERLET
64 *ET AL.*, 2011; TABERLET *ET AL.*, 2008). Desde então a pressão de seleção
65 aumentou drasticamente, resultando em rebanhos cada vez mais unifor-
66 mes e na fragmentação das populações originais visto que o cruzamento
67 entre raças passou a ser evitado. Num período mais recente, sob influên-
68 cia econômico-mercadológica, intensificou-se a seleção para produtivi-
69 dade, gerando raças cada vez mais especializadas e determinando o
70 desinteresse por raças autóctones menos produtivas. Como consequên-
71 cia várias raças locais foram extintas e outras estão ameaçadas de extin-
72 ção (ANDRABI; MAXWELL, 2007; GROENEVELD *ET AL.*, 2010).

73 Os bovinos Flamengos compõem uma das raças mais antigas da
74 França e fazem parte do grupo de raças vermelhas das planícies do Nor-
75 te da Europa (ELIAS, 2006). A raça é considerada de duplo propósito,
76 com maior aptidão leiteira, cuja principal característica produtiva está
77 mais relacionada com os elevados níveis de gordura e proteína no leite
78 do que com o volume produzido (ELIAS, 2006; THALER NETO *ET AL.*,
79 1996). Na França o número médio de vacas Flamengas por rebanho é
80 três vezes menor que o de Holandesas (LAUVIE *ET AL.*, 2008). Além de
81 ser substituída pela raça Holandesa, em seu país de origem, a raça Fla-
82 menga tem sido cruzada com animais vermelhos Belgas e Dinamarque-

83 ses, ocasionando uma drástica diminuição na quantidade de animais
84 puros registrados. A consequência desses cruzamentos pode ser medida
85 em números: em 1968 o rebanho francês possuía cerca de 230 mil reses
86 Flamengas, das quais apenas 12 mil estavam inscritas no Livro Genea-
87 lógico, já em 1988 foram inscritos apenas 674 animais no Herd-Book
88 Francês (ELIAS, 2006). Esse declínio acentuado foi determinante para
89 inclusão da raça Flamengo na lista das raças em risco de extinção da
90 FAO, entidade que no ano de 1997 estimou em 300 o número de fêmeas
91 Flamengas na França, das quais somente 180 foram registradas (FAO,
92 2000).

93 Registros informam que a raça Flamengo existe no Brasil desde
94 1945, ocasião em que se estabeleceu um núcleo de animais na cidade de
95 Lages (SC). Este núcleo de produção é mantido até hoje pela Empresa
96 de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPA-
97 GRI (ELIAS, 2006) e os animais remanescentes do grupo original com-
98 põem um rebanho de cerca de 50 animais nas diversas categorias, sendo
99 objeto de pesquisas que já produziram embriões *in vivo* e *in vitro* e ani-
100 mais clonados (MEZZALIRA *ET AL.*, 2012; ZAGO *ET AL.*, 2010).

101 A conservação dos recursos genéticos animais é considerada es-
102 sencial para conter a rápida perda de variedades e raças através de dilui-
103 ção genética ou da substituição de raças por outras mais produtivas

104 (GROENEVELD *ET AL.*, 2010; HENSON, 1992). Recentemente constatou-
105 se que o uso e a preservação dos recursos genéticos animais são insepa-
106 ráveis. Deste modo, a visão conservacionista atual é a de manter a diver-
107 sidade genética máxima de cada espécie prevendo necessidades para o
108 desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis (EGITO;
109 MARIANTE; ALBUQUERQUE, 2002). Além disso, a preservação de raças
110 locais é importante para a manutenção de tradições culturais, como fa-
111 bricação de produtos típicos, por pequenos produtores associados aos
112 costumes regionais (BOETTCHER *ET AL.*, 2010; COSTA, 2005).

113 É do conhecimento comum que as biotecnologias reprodutivas
114 têm sido aplicadas em diversas espécies e têm benefícios claros na con-
115 servação de animais domésticos e selvagens (SOLTI *ET AL.*, 2000;
116 SOUZA *ET AL.*, 2011). Assim, programas de conservação *in situ* e *ex situ*
117 podem ser beneficiados por biotécnicas como inseminação artificial,
118 transferência de embriões, fertilização *in vitro*, micromanipulação de
119 gametas e embriões, sexagem fetal e embrionária e, mais recentemente,
120 a clonagem por transferência nuclear de células somáticas ou embrioná-
121 rias (ANDRABI; MAXWELL, 2007; COMIZZOLI; MERMILLOD; MAUGET,
122 2000; GROENEVELD *ET AL.*, 2010).

123 Resultados satisfatórios da utilização dessas técnicas de repro-
124 dução assistida dependem de amplo conhecimento sobre a fisiologia

125 reprodutiva de cada grupo de interesse já que existem diferenças entre
126 espécies distintas e também entre grupos de uma mesma espécie
127 (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007; COMIZZOLI; MERMILLOD;
128 MAUGET, 2000; SOUZA *ET AL.*, 2011). Portanto, a compreensão dos
129 fenômenos fisiológicos de cada raça associados ao crescimento folicular
130 é fundamental para otimizar as biotécnicas da reprodução (BARUSELLI;
131 GIMENES; SALES, 2007) e, em diferentes níveis, assegurar o sucesso em
132 programas de conservação de recursos genéticos animais.

133 Um importante tema de estudo dentro da esfera reprodutiva está
134 relacionado ao desenvolvimento folicular e, como as informações a
135 respeito da Raça Flamengo são inexistentes, esforços no sentido de elu-
136 cidar os fenômenos que regem seu ciclo reprodutivo são necessários
137 para auxiliar no desenvolvimento de ferramentas que visem a multipli-
138 cação destes animais. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi gerar
139 conhecimento sobre o perfil de desenvolvimento folicular e hormonal
140 em fêmeas da raça Flamengo criadas no Sul do Brasil.

141 **Materiais e Métodos**

142 *Local e período do experimento*

143 O experimento foi realizado na Estação Experimental de Lages
144 (EEL) da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa
145 Catarina (EPAGRI), durante o outono de 2012, entre os meses de abril e
146 maio.

147 A EEL situa-se a 27°48'30''S de latitude, a 50°19'52''O de lon-
148 gitude e a 916 m de altitude em relação ao nível do mar, na região Sul
149 do Brasil.

150 *Animais*

151 Foram utilizadas 14 vacas multíparas, cíclicas, não lactantes e
152 não gestantes, com escore de condição corporal entre 3 e 3,5 (1=Muito
153 magra, 5=Muito Gorda) e idade variando entre 4 e 7 anos, divididas em
154 dois grupos de sete animais de acordo com a raça: Flamengo (FLA),
155 com peso médio de 566,7±18,16 Kg e Holandesa (HOL), com peso
156 médio inicial de 598,0±24,60 Kg, mantidas em pastagem natural (*Axo-*
157 *nopus sp.* e *Paspalum sp.*), com acesso a suplementação mineral e água
158 *ad libitum*. Todos os animais foram avaliados, através de palpação retal
159 e exame ultrassonográfico, a fim de identificar sinais de ciclicidade e
160 eventuais anormalidades do trato reprodutivo.

161 *Protocolo de sincronização e detecção do estro*

162 A fim de promover a sincronização estral dos grupos e otimizar
163 a avaliação da dinâmica folicular, cada animal recebeu duas doses de
164 500µg de Cloprostenol Sódico (Sincrocio ®, Ourofino Saúde Animal,
165 Cravinhos – SP, Brasil) pela via intramuscular com intervalo de 11 dias
166 entre elas. Um dia após a segunda dose os animais passaram a ser ob-
167 servados três vezes ao dia durante uma hora, as 07h00, as 15h00 e as
168 23h00 para detecção do estro, durante cinco dias.

169 *Avaliações Ultrassonográficas*

170 Os exames ultrassonográficos dos ovários tiveram início no dia
171 seguinte a detecção dos sinais de estro de cada animal. Esses exames
172 foram realizados sempre pelo mesmo operador, através da técnica trans-
173 retal com auxílio de um transdutor linear de 7,5 mHz (M5 Vet, Mindray,
174 Shenzhen, China), e foram repetidos a cada 24 horas durante 21 dias ou
175 até a constatação da segunda ovulação. Para acompanhamento da dinâ-
176 mica folicular, a cada avaliação os ovários foram mapeados por meio de
177 dispositivo do próprio aparelho e, retrospectivamente, os folículos foram
178 mensurados, sendo o maior deles identificado como folículo dominante
179 (FD) e o segundo maior como o maior folículo subordinado (FS).

180 *Coleta de sangue e dosagem das concentrações séricas de Progesterona*
181 *(P₄)*

182 Para análise dos perfis de P_4 foram coletadas amostras sangüí-
183 neas de cada animal imediatamente antes do exame ultrassonográfico. O
184 sangue foi coletado da veia ou artéria coccígea com tubos a vácuo, man-
185 tido em gelo até o término da coleta de todos os animais. Após quatro
186 horas, realizou-se a centrifugação do sangue a 3000 rpm durante 15
187 minutos e o sobrenadante foi pipetado e depositado em microtubos plás-
188 ticos devidamente identificados e armazenados em freezer a -20°C . As
189 dosagens foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia Animal da
190 Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP – Araçatuba, pelo méto-
191 do de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida (Caot-a-Count, Diagnosis
192 Products Co., Los Angeles, USA). O dia escolhido para coletar a primei-
193 ra amostra foi o dia da detecção do estro e a partir daí foram coletadas
194 mais quatro amostras sangüíneas de cada animal, com intervalo de cinco
195 dias entre elas. O coeficiente de variação intraensaio para a progesterona
196 baixa foi de 0,35% e para progesterona alta, de 5,10%.

197 Todos os procedimentos executados foram aprovados pelo Co-
198 mitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Agro-
199 veterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina
200 (CAV/UDESC).

201 *Análise estatística dos dados*

202 As taxas de crescimento (mm/dia) dos folículos foram determi-
203 nadas através da regressão linear, conforme (SIROIS; FORTUNE, 1988). O
204 diâmetro dos folículos no dia da emergência e o diâmetro máximo dos
205 folículos foram avaliados pelo teste *t de Student*. A variação no diâmetro
206 folicular diário e na concentração sérica de P₄ entre grupos e dentro de
207 cada grupo foi avaliado através da análise da variância para dados repe-
208 tidos tendo como classes o grupo e o dia e, como fator de repetição, o
209 animal. O dia da divergência folicular foi determinado através da regres-
210 são segmentada proposta por (BERGFELT *ET AL.*, 2003) tendo como vari-
211 ável dependente a diferença absoluta entre os diâmetros dos dois maio-
212 res folículos. As variáveis contínuas relativas a dinâmica folicular e as
213 concentrações séricas de P₄ que não atenderam os pré-requisitos de
214 normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias
215 (teste de Bartlett) foram submetidas a transformação de BoxCox. As
216 análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os softwares R (R
217 DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013) e JMP (SAS INSTITUTE INC., 2007).
218 Os dados são apresentados na forma de média ± erro-padrão da média e
219 o nível de significância adotado foi de 5%.

220 **Resultados e discussão**

221 Dois animais (1 Flamenga e 1 Holandesa) foram excluídos das
222 análises em virtude de não terem apresentado sinais de estro e outros
223 três animais (1 Flamenga e 2 Holandesas) foram excluídos por terem
224 apresentado cisto luteinizado durante o experimento.

225 Não houve diferença no crescimento folicular entre vacas das
226 raças Flamenga e Holandesa ($p \geq 0,05$). O diâmetro do FD e do FS de
227 cada grupo durante o ciclo estral está apresentado nas Figuras 1 e 2.
228 Estes resultados eram esperados em função de se tratarem de animais de
229 raças europeias e estão de acordo com estudos anteriores realizados
230 nestas raças (GINTHER *ET AL.*, 1996; SIROIS; FORTUNE, 1988). Da mes-
231 ma maneira, são fortemente suportados pelos dados apresentados na
232 Figura 3 que demonstra não haver diferença ($p \geq 0,05$) entre os níveis de
233 progesterona sérica durante um ciclo estral entre os grupos Flamenga e
234 Holandesa. Como o controle do crescimento folicular é indiretamente
235 influenciado pelos níveis de P_4 parece lógico que não havendo diferença
236 entre os níveis de P_4 não haveria diferença entre o diâmetro folicular dos
237 dois grupos testados (STOCK; FORTUNE, 1993).

238 No momento em que os folículos foram detectados pela primei-
239 ra vez, o diâmetro do maior folículo foi de $3,97 \pm 0,19$ mm para vacas
240 Flamengas e de $4,00 \pm 0,35$ mm para as Holandesas. No mesmo mo-
241 mento o segundo maior folículo mediu $3,40 \pm 0,22$ mm nas Flamengas e

242 3,07 ± 0,26 mm nas Holandesas, portanto, na emergência dos folículos
243 não houve diferença entre grupos ($p \geq 0,05$) embora o futuro FD tenha
244 sido maior que o FS já nesse momento ($p < 0,05$). Em ambos os grupos o
245 futuro FD foi detectado na mesma avaliação que o FS, divergindo de
246 outros estudos (CASTILHO *ET AL.*, 2007; GINTHER *ET AL.*, 2001b;
247 GINTHER *ET AL.*, 1996) que concluíram que o FD pode ser identificado
248 mais cedo que o FS. Entretanto, o intervalo entre as avaliações do pre-
249 sente estudo (24 h) foi maior que o daqueles trabalhos (8 h), o que pode-
250 ria justificar a discrepância observada.

251 O intervalo entre a emergência e a divergência folicular nesse
252 estudo, determinado através da regressão segmentada, foi de três dias e
253 está de acordo com os valores preconizados para animais taurinos
254 (BERGFELT *ET AL.*, 2003; GIMENES *ET AL.*, 2011; KULICK *ET AL.*, 1999).
255 Novamente, caso o intervalo entre as avaliações fosse menor, mesmo
256 não sendo o objetivo principal desse estudo, o momento da divergência
257 poderia ser estimado com maior precisão.

258 O tamanho do FD de vacas Flamengas no início da divergência
259 folicular foi 8,04 ± 0,37 mm e não diferiu do diâmetro de 8,39 ± 0,47
260 mm das Holandesas ($p \geq 0,05$). Esses valores são semelhantes ao parâme-
261 tro previamente estabelecido (ADAMS *ET AL.*, 2008; BERGFELT *ET AL.*,
262 2003; GINTHER *ET AL.*, 1996; LOPEZ; SARTORI; WILTBANK, 2005).

263 A taxa de crescimento diário do grupo das Flamengas foi de
264 $1,10 \pm 0,04$ mm para o FD e de $0,67 \pm 0,06$ mm para o FS; já nas Ho-
265 landesas o crescimento diário foi de $1,01 \pm 0,05$ mm para o FD e de $0,72$
266 $\pm 0,09$ mm para o FS. Os grupos não diferiram entre si, mas os folículos
267 dentro do mesmo grupo tiveram taxas de crescimento diferentes
268 ($p < 0,05$). O crescimento diário do FD evidenciado neste estudo foi simi-
269 lar ao dos estudos conduzidos por outros grupos de pesquisa (ALVAREZ
270 *ET AL.*, 2000; BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003; CARVALHO *ET AL.*,
271 2008; SIROIS; FORTUNE, 1988).

272 As taxas de crescimento do FD são constantes desde a emer-
273 gência até o início da fase estática ou ovulação. O FS apresenta compor-
274 tamento distinto já que possui taxa de crescimento semelhante a do FD
275 somente até o momento da divergência e, a partir daí, tem seu cresci-
276 mento diminuído ou paralizado (GINTHER *ET AL.*, 2001a; KULICK *ET AL.*,
277 2001). Esse padrão foi evidenciado em nosso estudo, conforme se per-
278 cebe na Figura 4, demonstrando que a diferença entre o tamanho do FD
279 e do FS observada após a divergência está mais relacionada a paralisa-
280 ção do crescimento do FS, do que com incremento na taxa de cresci-
281 mento do FD.

282 Para vacas Flamengas, o valor médio do diâmetro máximo do
283 folículo ovulatório foi de $13,16 \pm 0,33$ mm e o valor médio do diâmetro

284 máximo do folículo dominante não ovulatório foi de $13,01 \pm 0,48$ mm.
285 Vacas Holandesas apresentaram valores de $14,20 \pm 0,60$ mm e $13,00 \pm$
286 $0,59$ mm, respectivamente, para as mesmas medidas. Estes valores estão
287 de acordo com valores situados entre 13 – 20 mm, já relatados em vacas
288 de raças taurinas (ALVAREZ *ET AL.*, 2000; ALVES *ET AL.*, 2002;
289 SARTORI, R *ET AL.*, 2006; SIROIS; FORTUNE, 1988).

290 Não houve diferença entre o diâmetro máximo do folículo ovu-
291 latório e do folículo dominante não ovulatório quando os grupos foram
292 comparados ($p \geq 0,05$), também não houve diferença na comparação
293 intra-grupo ($p \geq 0,05$), contrariando estudos anteriores (SAVIO *ET AL.*,
294 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988) que afirmam que o folículo ovulatório é
295 maior que os FDs não ovulatórios.

296 Os níveis médios mínimos de P_4 foram de $0,155 \pm 0,016$ ng/ml
297 para vacas Flamengas e $0,300 \pm 0,048$ ng/ml para vacas Holandesas
298 durante o estro e, níveis máximos de $6,651 \pm 1,868$ ng/ml e $5,957 \pm$
299 $1,233$ ng/ml foram atingidos no diestro, respectivamente para os grupos
300 FLA e HOL, concordando com os valores estabelecidos para vacas Ho-
301 landesas (SARTORI, R. *ET AL.*, 2004). Embora a concentração de P_4 séri-
302 ca não tenha diferido entre os grupos em nenhuma das avaliações
303 ($p \geq 0,05$) (Figura 3), tampouco tenha sido influenciada pela interação
304 grupo-tempo ($p \geq 0,05$), variou significativamente em função da fase do

305 ciclo no dia da coleta ($p \geq 0,05$), ajustando-se a um modelo cúbico repre-
306 sentado pela equação $P_4 = 0,111 - 0,073\text{Dia} + 0,108\text{Dia}^2 -$
307 $0,005\text{Dia}^3$; ($R^2 = 0,58$), num padrão semelhante aos dados em fêmeas
308 bovinas (SANTIAGO *ET AL.*, 2001). Estes dados dão suporte aos resulta-
309 dos apresentados na Figura 4 onde a diferença entre os maiores folículos
310 presentes no ovário reduz a medida que os níveis de P_4 aumentam (Fi-
311 gura 3), já que altas concentrações de P_4 durante o ciclo inibem a secre-
312 ção do LH (STOCK; FORTUNE, 1993).

313 **Conclusão**

314 Vacas Flamengas apresentam padrão de desenvolvimento foli-
315 cular e perfil de progesterona sérica semelhantes aos de vacas Holande-
316 sas sugerindo ser possível a aplicação de biotecnologias da reprodução
317 utilizadas em animais da raça Holandesa em animais da raça Flamengo.

318 **Agradecimentos**

319 A EEL/EPAGRI, por disponibilizar os animais e o espaço físi-
320 co. Aos Professores Mario Binelli da Universidade de São Paulo e Gui-
321 lherme de Paula Nogueira por terem gentilmente viabilizado e executa-
322 do os ensaios para determinação da P_4 .

323 **Referências**

- 324 ADAMS, G. P. *et al.* Progress in understanding ovarian follicular
325 dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 72-80, 2008.
326
- 327 ALVAREZ, P. *et al.* Ovarian and endocrine characteristics during an
328 estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical
329 environment. **J Anim Sci**, v. 78, n. 5, p. 1291-1302, May 2000.
330
- 331 ALVES, N. G. *et al.* Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça
332 Holandesa e mestiças Holandês x Zebu durante dois ciclos estrais
333 normais consecutivos. **R Bras Zootec**, v. 31, n. 2, p. 627-634, 2002.
334
- 335 ANDRABI, S.; MAXWELL, W. A review on reproductive
336 biotechnologies for conservation of endangered mammalian species.
337 **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 223 - 243, 2007.
338
- 339 BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia
340 reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de**
341 **Reprodução Animal**, v. 31, p. 205-211, 2007.
342
- 343 BERGFELT, D. R. *et al.* Calculated follicle deviation using segmented
344 regression for modeling diameter differences in cattle. **Theriogenology**,
345 v. 59, p. 1811-1825, 2003.
346
- 347 BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and
348 manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal**
349 **Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.
350
- 351 BOETTCHER, P. J. *et al.* Objectives, criteria and methods for using
352 molecular genetic data in priority setting for conservation of animal
353 genetic resources. **Anim Genet**, v. 41 Suppl 1, p. 64-77, May 2010.
354
- 355 CARVALHO, J. B. *et al.* Effect of early luteolysis in progesterone-
356 based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and
357 *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 167-175, Jan 15
358 2008.
359
- 360 CASTILHO, C. *et al.* Follicular dynamics and plasma FSH and
361 progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-

- 362 ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction**
363 **Science**, v. 98, p. 189-196, 2007.
- 364
- 365 COMIZZOLI, P.; MERMILLOD, P.; MAUGET, R. Reproductive
366 biotechnologies for endangered mammalian species. **Reproduction**
367 **Nutrition Development**, v. 40, p. 493 - 504, 2000.
- 368
- 369 COSTA, J. N. **Estudo da diversidade genética de raças caprinas do**
370 **norte da Itália pela análise de polimorfismos no gene do hormônio**
371 **de crescimento - GH**. 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado). Pós-
372 Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade
373 Católica de Brasília, Brasília, 2005.
- 374
- 375 EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M.
376 Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais.
377 **Archivos de zootecnia**, v. 51, n. 193-194, p. 39-52, 2002.
- 378
- 379 ELIAS, A. C. **O centenário do Herd-Book Collares: 100 anos**.
380 Pelotas, RS: Futura.rs Comunicação & Marketing, 2006. 348 p.
- 381
- 382 FAO. **World watch list for domestic animal diversity**. 3 ed. Rome:
383 Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2000. 726 p.
- 384
- 385 _____. **Peoples and animals - traditional livestock keepers:**
386 **guardians of domestic animal diversity**. Rome: Food and Agriculture
387 Organization of the United Nations, 2007. 123 p. ISBN 978-92-5-
388 105684-4.
- 389
- 390 GIMENES, L. U. *et al.* Ultrasonographic and endocrine aspects of
391 follicle deviation, and acquisition of ovulatory capacity in buffalo
392 (*Bubalus bubalis*) heifers. **Animal reproduction science**, v. 123, p.
393 175-9, 2011.
- 394
- 395 GINTHER, O. J. *et al.* Follicle selection in cattle: relationships among
396 growth rate, diameter ranking and capacity for dominance. **Biology of**
397 **Reproduction**, v. 65, p. 345-350, 2001a.
- 398
- 399 _____. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology**
400 **of reproduction**, v. 64, p. 197-205, 2001b.
- 401

- 402 GINTHER, O. J. *et al.* Selection of the dominant follicle in cattle.
403 **Biology of reproduction (USA)**, v. 55, p. 1187-1194, 1996.
404
- 405 GROENEVELD, L. F. *et al.* Genetic diversity in farm animals--a
406 review. **Anim Genet**, v. 41 Suppl 1, p. 6-31, May 2010.
407
- 408 HENSON, E. L. **In situ conservation of livestock and poultry**. Roma:
409 FAO, 1992. 112 p. (FAO Animal Production and Health Paper, 99).
410
- 411 KULICK, L. J. *et al.* Follicle selection in cattle: Follicle deviation and
412 codominance within sequential waves. **Biology of Reproduction**, v. 65,
413 n. 3, p. 839-846, Sep 2001.
414
- 415 KULICK, L. J. *et al.* Follicular and hormonal dynamics during the first
416 follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 52, n. 5, p. 913-21, Oct 1
417 1999.
418
- 419 LAUVIE, A. *et al.* A controversy about crossbreeding in a conservation
420 programme: the case study of the Flemish Red cattle breed. **Livestock**
421 **Science**, v. 118, n. 1-2, p. 113-122, 2008.
422
- 423 LOPEZ, H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. Reproductive
424 hormones and follicular growth during development of one or multiple
425 dominant follicles in cattle. **Biol Reprod**, v. 72, p. 788-795, 2005.
426
- 427 MEZZALIRA, A. *et al.* Cloning as a tool to rescue the genotype of a
428 freemartin flemish cow. In: Annual Meeting of Brazilian Embryo
429 Technology Society, 26. 2012, Foz do Iguaçu, PR, Brazil. Anais. SBTE,
430 p. 643.
431
- 432 R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment**
433 **for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical
434 Computing 2013.
435
- 436 SANTIAGO, L. L. *et al.* Perfil Hormonal de Progesterona durante o
437 Ciclo Estral em Novilhas Nelore Confinadas com Diferentes Ondas de
438 Crescimento Follicular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 2017-
439 2020, 2001.
440

- 441 SARTORI, R. *et al.* Comparison of artificial insemination versus
442 embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p.
443 1311-1321, 2006.
- 444
- 445 SARTORI, R. *et al.* Comparison of ovarian function and circulating
446 steroids in estrous cycles of hostein heifers and lactating cows. **J Dairy**
447 **Sci**, v. 87, p. 905-920, 2004.
- 448
- 449 SAS INSTITUTE INC. **JMP, version 7**. Cary, NC: SAS Institute Inc.
450 2007.
- 451
- 452 SAVIO, J. D. *et al.* Pattern of growth of dominant follicles during the
453 estrous cycle of heiferes. **J Reprod Fert**, v. 83, p. 663-671, 1988.
- 454
- 455 SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the
456 estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology**
457 **of Reproduction**, v. 39, p. 308-317, 1988.
- 458
- 459 SOLTI, L. *et al.* Economical and ecological importance of indigenous
460 livestock and the application of assisted reproduction to their
461 preservation. **Theriogenology**, v. 53, p. 149-162, 2000.
- 462
- 463 SOUZA, J. M. G. *et al.* Reproductive biotechnologies applied to the
464 conservation of endangered ruminant - past, present and future. **Revista**
465 **Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, n. 577 - 580, p. 31 - 38,
466 2011.
- 467
- 468 STOCK, A. E.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dominance in cattle:
469 relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and
470 endocrine parameters. **Endocrinology**, v. 132, n. 3, p. 1108-1114, Mar
471 1993.
- 472
- 473 TABERLET, P. *et al.* Conservation genetics of cattle, sheep, and goats.
474 **C R Biol**, v. 334, n. 3, p. 247-54, 2011.
- 475
- 476 TABERLET, P. *et al.* Are cattle, sheep, and goats endangered species?
477 **Mol Ecol**, v. 17, n. 1, p. 275-84, Jan 2008.
- 478
- 479 THALER NETO, A. *et al.* Fatores que afetam a produção de leite e o
480 período de lactação em um rebanho das raças Flamenga e Holandesa no
481 Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 26, p. 123 -128, 1996.

482
483 ZAGO, F. C. *et al.* Efficiency of reproductive technologies applied to
484 the Flamenga breed for genetic conservation (Preliminary data). **Acta**
485 **Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. Supl. 2, p. 770, 2010.

Legenda das figuras

486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501

Figura 1 – Perfil de crescimento do folículo dominante (FD) em vacas Flamengas (n=5) e Holandesas (n=4) durante o ciclo estral.

Figura 2 – Perfil de crescimento do maior folículo subordinado (FS) em vacas Flamengas (n=5) e Holandesas (n=4) durante o ciclo estral

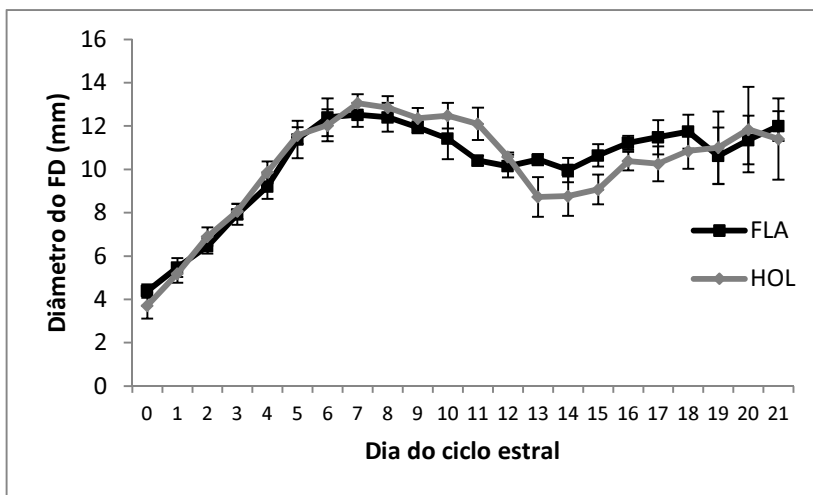
Figura 3 – Média (\pm E.P.M.) da concentração Progesterona sérica de vacas Flamengas e Holandesas durante o ciclo estral. D0: dia da detecção do estro. T: efeito do tempo. (^a, ^b, ^c) Letras diferentes indicam diferença significativa entre tempos ($p < 0,05$).

Figura 4 – Diferença entre os dois maiores folículos presentes no ovário de vacas Flamengas (n=5) e Holandesas (n=4), por dia do ciclo estral ($\bar{x} \pm EPM$)

502 Fig 1

503

504

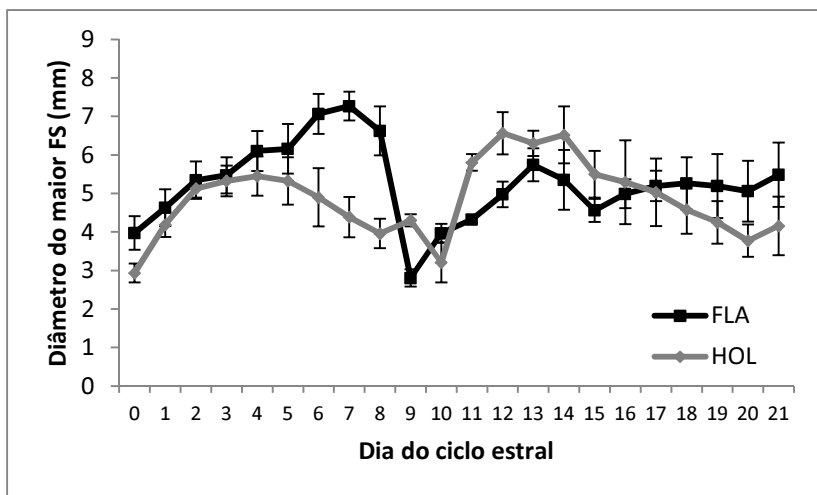


505

506

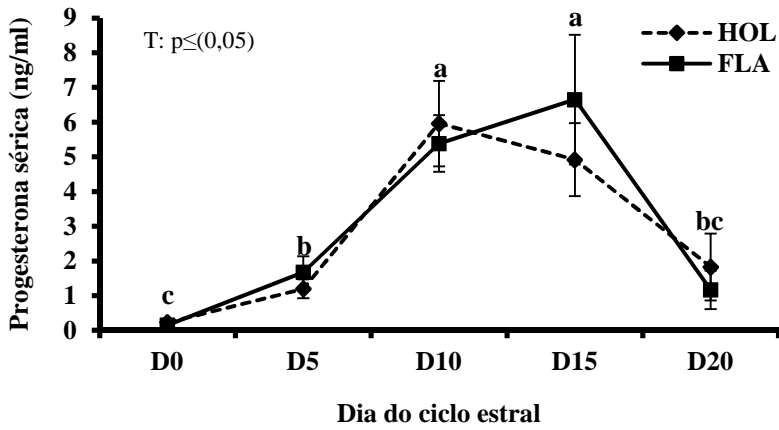
507

508 Fig 2
509
510



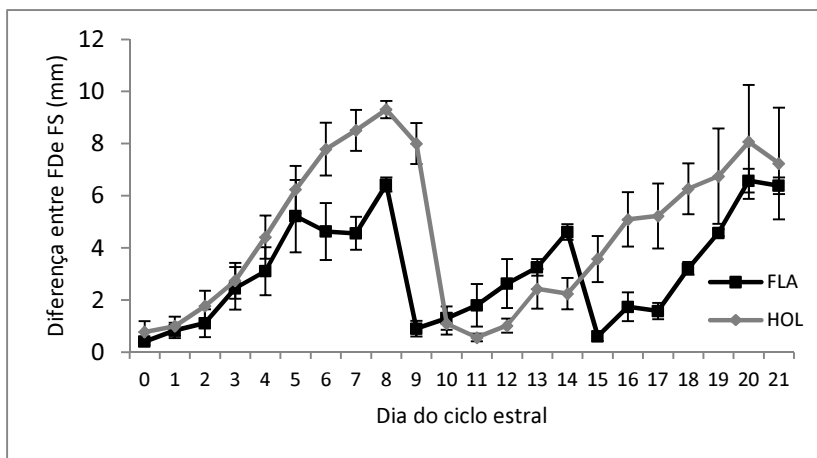
511
512
513

514 Fig 3
515
516



517
518

519 Fig 4
520
521



522
523

4 CONCLUSÃO

Em suma, vacas Flamengas apresentam padrão de desenvolvimento folicular e perfil de progesterona sérica semelhantes aos de vacas Holandesas. Estes resultados demonstram que os animais da raça Flamenga que se encontram na EEL/EPAGRI ainda mantem um padrão reprodutível compatível com animais das raças europeias mesmo tendo passado por um longo período de adaptação no sul do Brasil. Além disso, os resultados obtidos sugerem ser possível a aplicação de biotecnologias da reprodução desenvolvidas para outras raças taurinas em animais da raça Flamenga. Esta possibilidade certamente auxiliará em programas de conservação da raça Flamenga bem como na conservação da biodiversidade através de bancos de germoplasma.

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P.; JAISWAL, R. S. Dinâmica folicular em bovino: visão geral da história e atualização. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 377-386, 2008.

ADAMS, G. P. *et al.* Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 72-80, 2008.

ADAMS, G. P. *et al.* Association between Surges of Follicle-Stimulating-Hormone and the Emergence of Follicular Waves in Heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 94, n. 1, p. 177-188, Jan 1992.

AERTS, J. M.; BOLS, P. E. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. **Reprod Domest Anim**, v. 45, n. 1, p. 180-7, Feb 2010.

ANDRABI, S.; MAXWELL, W. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 223 - 243, 2007.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 205-211, 2007.

BERGFELT, D. R. *et al.* Calculated follicle deviation using segmented regression for modeling diameter differences in cattle. **Theriogenology**, v. 59, p. 1811-1825, 2003.

BOETTCHER, P. J. *et al.* Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. **Anim Genet**, v. 41 Suppl 1, p. 64-77, May 2010.

COMIZZOLI, P.; MERMILLOD, P.; MAUGET, R. Reproductive biotechnologies for endangered mammalian species. **Reproduction Nutrition Development**, v. 40, p. 493 - 504, 2000.

COSTA, J. N. **Estudo da diversidade genética de raças caprinas do norte da Itália pela análise de polimorfismos no gene do hormônio de crescimento - GH**. 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em

Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2005.

EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Archivos de zootecnia**, v. 51, n. 193-194, p. 39-52, 2002.

ELIAS, A. C. **O centenário do Herd-Book Collares: 100 anos**. Pelotas, RS: Futura.rs Comunicação & Marketing, 2006. 348 p.

EVANS, A. C. O. Characteristics of Ovarian Follicle Development in Domestic Animals. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 38, p. 240-246, 2003.

FAO. **World watch list for domestic animal diversity**. 3 ed. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2000. 726 p.

_____. **Peoples and animals - traditional livestock keepers: guardians of domestic animal diversity**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007a. 123 p. ISBN 978-92-5-105684-4.

_____. **World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007b. 511 p.

FORTUNE, J. E. *et al.* Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biol Reprod**, v. 65, n. 3, p. 648-54, Sep 2001.

FRANCE GÉNÉTIQUE ELEVAGE. Rouge Flamande. 2013. Disponível em: < <http://en.france-genetique-elevage.org/Rouge-Flamande,368.html> >. Acesso em: 08/03/2013.

GIMENES, L. U. *et al.* Follicle deviation and ovulatory capacity in Bos indicus heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 852-858, 2008.

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 61-79, Jul 2 2000.

GINTHER, O. J. *et al.* Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 239-257, 2003.

GINTHER, O. J. *et al.* Follicle selection in cattle: relationships among growth rate, diameter ranking and capacity for dominance. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 345-350, 2001.

_____. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. **Reproduction**, v. 124, n. 4, p. 475-482, Oct 2002.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 187-200, 1989.

GINTHER, O. J. *et al.* Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of reproduction (USA)**, v. 55, p. 1187-1194, 1996.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2008. 395 p.

GROENEVELD, L. F. *et al.* Genetic diversity in farm animals--a review. **Anim Genet**, v. 41 Suppl 1, p. 6-31, May 2010.

HENSON, E. L. **In situ conservation of livestock and poultry**. Roma: FAO, 1992. 112 p. (FAO Animal Production and Health Paper, 99).

HOLT, W. V.; PICKARD, A. R. Role of reproductive technologies and genetic resource banks in animal conservation. **Rev Reprod**, v. 4, n. 3, p. 143-50, Sep 1999.

KULICK, L. J. *et al.* Follicle selection in cattle: Follicle deviation and codominance within sequential waves. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 3, p. 839-846, Sep 2001.

KULICK, L. J. *et al.* Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 52, n. 5, p. 913-21, Oct 1 1999.

LAUVIE, A. *et al.* A controversy about crossbreeding in a conservation programme: the case study of the Flemish Red cattle breed. **Livestock Science**, v. 118, n. 1-2, p. 113-122, 2008.

LEON-QUINTO, T. *et al.* Developing biological resource banks as a supporting tool for wildlife reproduction and conservation The Iberian lynx

bank as a model for other endangered species. **Anim Reprod Sci**, v. 112, n. 3-4, p. 347-61, Jun 2009.

LOI, P. *et al.* Genetic rescue of an endangered mammal by cross-species nuclear transfer using post-mortem somatic cells. **Nature Biotechnology**, v. 19, p. 962-964, 2001.

MARIANTE, A. S.; CAVALCANTE, N. **Animais do descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. 2 ed. Brasília: CENARGEN/EMBRAPA, 2006. 254 p.

MEZZALIRA, A. *et al.* Cloning as a tool to rescue the genotype of a freemartin flemish cow. In: Annual Meeting of Brazilian Embryo Technology Society, 26. 2012, Foz do Iguaçu, PR, Brazil. Anais. SBTE, p. 643.

MIHM, M. *et al.* Molecular Evidence That Growth of Dominant Follicles Involves a Reduction in Follicle-Stimulating Hormone Dependence and an Increase in Luteinizing Hormone Dependence in Cattle. **Biology of Reproduction**, v. 74, p. 1051-1059, 2006.

MIHM, M. *et al.* Follicle Wave Growth in Cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n. 4, p. 191-200, 2002.

PETER, A. T. *et al.* Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 71, p. 1343-1357, 2009.

SARTORELLI, E. S. *et al.* Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v. 63, p. 2382-2394, 2005.

SARTORI, R.; BARROS, C. M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 124, p. 244-250, 2011.

SAVIO, J. D. *et al.* Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heiferes. **J Reprod Fert**, v. 83, p. 663-671, 1988.

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 308-317, 1988.

SOLTI, L. *et al.* Economical and ecological importance of indigenous livestock and the application of assisted reproduction to their preservation. **Theriogenology**, v. 53, p. 149-162, 2000.

SOUSA, O. R. C.; SANTOS, O. V.; SILVA JR., V. P. **Análise técnica e econômica comparativa de atividades agrícolas na unidade de planejamento regional do Planalto Sul Catarinense (UPR-3) - 2004/05.** Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. Florianópolis: EPAGRI, 2005. 17 p.

SOUZA, J. M. G. *et al.* Reproductive biotechnologies applied to the conservation of endangered ruminant - past, present and future. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, n. 577 - 580, p. 31 - 38, 2011.

TABERLET, P. *et al.* Conservation genetics of cattle, sheep, and goats. **C R Biol**, v. 334, n. 3, p. 247-54, 2011.

THALER NETO, A. *et al.* Fatores que afetam a produção de leite e o período de lactação em um rebanho das raças Flamenga e Holandesa no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 26, p. 123 -128, 1996.

TURZILLO, A. M.; FORTUNE, J. E. Effects of supressing plasma FSH on ovarian follicular dominance in cattle. **J Reprod Fert**, v. 98, p. 113-119, 1993.

WILTBANK, M. C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-52, 2002.

ZAGO, F. C. *et al.* Efficiency of reproductive technologies applied to the Flamenga breed for genetic conservation (Preliminary data). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. Supl. 2, p. 770, 2010.