

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA**

**INFLUÊNCIA MATERNA NAS CARACTERÍSTICAS
MORFOLÓGICAS DE OVÁRIOS E TESTÍCULOS DE
FETOS BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Juliana Stephani de Souza

Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARAÇATUBA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DE ARAÇATUBA**

**INFLUÊNCIA MATERNA NAS CARACTERÍSTICAS
MORFOLÓGICAS DE OVÁRIOS E TESTÍCULOS DE
FETOS BOVINOS DA RAÇA NELORE**

Juliana Stephani de Souza

Orientador: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina
Veterinária – Unesp, Campus de
Araçatuba, como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre em Ciência
Animal (Fisiopatologia Médica e
Cirúrgica).

Araçatuba – SP

2014

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Souza, Juliana Stephani

S729i

Influência materna nas características morfológicas de ovários e testículos de fetos bovinos da raça nelore/ Juliana Stephani de Souza. -- Araçatuba: [s.n], 2014.

178 f. il.; + CD-ROM

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2014.

Orientador: Prof. Adjunto Guilherme de Paula Nogueira

1. Prenhez. 2. Folículo ovariano. 3. Célula de Sertoli. 4. Células intersticiais do testículo. 5. Células germinativas I. T.

CDD 636.0892



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba
Seção Técnica de Graduação e Pós-Graduação



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

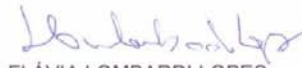
TÍTULO: Influência materna nas características morfológicas de ovários e testículos de fetos
bovinos da raça Nelore.

AUTORA: JULIANA STEPHANI DE SOUZA

ORIENTADOR: Dr. GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRA em CIÊNCIA ANIMAL
(MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E PRODUÇÃO ANIMAL) pela Comissão Examinadora.


Dr. MANOEL FRANCISCO DE SÁ FILHO


Dra. FLÁVIA LOMBARDI LOPES


Dr. GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA

DATA DA REALIZAÇÃO: 13 de agosto de 2014.



Presidente da Comissão Examinadora
Dr. GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA
- Orientador -

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

JULIANA STEPHANI DE SOUZA - Nascida em São Paulo, Estado de São Paulo, em 13 de abril de 1988. Realizou o ensino fundamental no Instituto de Ensino Santo Ivo e no Colégio Angélica – SP e o ensino médio no Colégio Nossa Senhora de Sion - SP. Ingressou no curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, em 2006 e formou-se no ano de 2011. Participou do programa de Convênio Bilateral entre a UNESP e a Universidade de Santiago de Compostela – USC – Espanha no ano de 2008 e 2009, integralizando créditos em disciplinas obrigatórias da faculdade de medicina veterinária. Foi bolsista da FAPESP em duas iniciações científicas (Processo: 2007/56156-8 e 2010/01921-4). Em 2012, ingressou na Pós-graduação em Ciência Animal, na UNESP – Campus de Araçatuba, na área de Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, sob orientação do Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira, com ênfase em fisiologia da reprodução e desenvolvimento embrionário, sendo o projeto de pesquisa financiado pela Fapesp através do auxílio à pesquisa (processo APR 2011/50839-1) e a bolsa (2011/15282-6). Em 2014, realizou estágio de pesquisa no exterior, com bolsa BEPE (2013/18200-6), financiada pela FAPESP, com duração de 5 meses, na University of British Columbia – UBC – Canadá, com orientação do Prof. Ronaldo Luis Aoki Cerri, com ênfase na área de reconhecimento da prenhez e perdas embrionárias devido fatores inflamatórios. Concluiu o curso de pós graduação em 2014, obtendo o título de Mestre.

EPÍGRAFE

Seja quem você for, seja qualquer posição que você tenha na vida, do nível altíssimo ao mais baixo, tenha sempre como meta muita coragem e determinação... E sempre faça tudo com muito amor e muita fé em Deus, porque um dia você chega lá...

De alguma maneira, você chega lá!

Ayrton Senna

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família: inspiração de força, união,
companheirismo e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus por todas oportunidades que surgiram durante a minha vida, por ter me guiado em cada passo, nas escolhas feitas e por ter me protegido de todo mal que pudesse impedir a realização do meu sonho.

Agradeço de forma incondicional aos meu pais Jonas e Sandra, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando em todas as decisões tomadas, nas dificuldades vividas, por terem me ensinado o caminho do bem, por terem me educado, confiado em mim e acima de tudo, por terem me amado mais que tudo. Meu único objetivo é que vocês tenham orgulho de mim para sempre! Eu amo vocês demais e agradeço todos os dias por serem meus pais, os melhores que eu poderia ter.

Ao meu irmão, Renato, meu melhor amigo, por me ouvir e me apoiar em todos as horas, sempre me dando muito amor e companheirismo, que só o melhor irmão do mundo conseguiria me dar, por confiar em mim profissionalmente, a ponto de me escolher como coorientadora e me dar a primeira oportunidade de praticar a arte da profissão acadêmica, aquela que escolhi para mim. Eu te amo! Agradeço a minha família, vó Anna, vô Remo, vô Jonas e vó Maria, meus tios (Sidnei, Rosana, Selma, Wilson, Ivani, Julio, Albani, Dulce, Robson, Álvaro, Edna, Marise, Danilo, Erminia, João e Veronica), meus primos (Dé, Pauleta, Julinho, Dri, Fe, Nana, Léia, Carol, João, Ricardo, Miguelzito, Jaque, Kaique e Thiago) por todas as conversas, amor, choros, risadas, conselhos e principalmente pela confiança que tiveram

em mim. Mais uma vez, eu só quero que vocês se orgulhem de mim e eu amo e agradeço a Deus por ter vocês.

Ao meu amor, Alexandre, por me escutar, me apoiar, me animar em todos os momentos difíceis e felizes desses 2,5 anos e principalmente por me acompanhar em todas as minhas realizações, indo até o Canadá para me dar forças, para que eu atingisse meu objetivo. Foram muitos abraços, carinhos e até telefonemas com as melhores palavras de motivação, para que eu nunca desistisse do meu sonho. Você é o melhor companheiro e a melhor escolha que eu fiz na minha vida, eu te amo eternamente.

Ao Professor Guilherme de Paula Nogueira, por ter me aceitado como orientada de mestrado e ter possibilitado a realização do meu segundo degrau profissional, em busca de atingir o meu sonho final. Eu cresci imensamente nesses anos e te agradeço por todas as oportunidades oferecidas, pelas broncas dadas e pela orientação em todas as etapas do meu trabalho.

A FMVA - UNESP Araçatuba, por me formar veterinária e por me acolher, mais uma vez, na minha formação como mestre, a FAPESP por financiar meu projeto, aos funcionários do JBS de Andradina por possibilitar a coleta de amostras e principalmente a equipe do Laboratório de Endocrinologia Animal, Devani, Maria Carolina, David, Marcos, Sarita, Heni, João Lucas, Marco, Rafael, Beatriz e Arthur, por participar e acompanhar, todos os dias das conquistas deste trabalho.

Ao Professor Ronaldo Cerri, por me orientar no estágio de pesquisa no exterior, me receber no seu grupo e me ensinar o melhor

lado de fazer pesquisa. A University of British Columbia – UBC por me receber e possibilitar meu grande sonho. Muito obrigada!

Aos professores Marcelo Seneda, Daniela Rozza, Maria Cecília Luvizzoto, Gisele Machado, Silvia Helena Perri, Marion Koivisto, Flávia Lombardi, Maria Claudia Bertan, Manoel de Sá Filho e Marcelo Meireles que de alguma forma ajudaram na realização das etapas deste trabalho. Aos funcionários da FMVA, Devani Pinheiro e Lorinaldo de Moraes que ajudaram ativamente e me ensinaram coisas que levarei para a vida.

As minhas amigas-irmãs de república, Juliana Tchubirubi, Thais Coco Rachado, Thainá Delaide e Cynara Cynaida por estarem comigo todos os dias, na alegria e na tristeza, fazendo minha vida araçatubense valer a pena e por nunca deixarem faltar colo, quando eu estava tão longe de casa. Vocês foram essenciais e eu amo muito vocês.

Aos meus amigos, os melhores do mundo, Luciane, Daniele, Luana, Malta, Tarsila, Flávia, Matheus, Arthur, Leopoldo, Bruna, Milena, Maria Carolina, David, Marcos, Artur e Talita, Bianca, Sara, Justine e Erica que de algum jeito muito importante, cada um da sua maneira, fizeram minha vida muito mais fácil e feliz, com momentos de alegrias, risadas, conselhos, choros, amizade e parceria, que eu retribuirei todos os dias da minha vida! Vocês foram, são e serão sempre os melhores!

Por fim, mas nunca menos importante, ao Thor, por todo o amor incondicional e simplesmente mais sincero e sem interesse que eu já tive! Você será para sempre o meu gordinho-baleia, de quatro patas mais importante da minha vida. Eu te amo incondicionalmente!

ABREVIATURAS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO	32
2 REVISAO DE LITERATURA	36
2.1 FETAL PROGRAMMING	36
2.2 DESENVOLVIMENTO GONADAL	37
2.3 OOGÊNESE E FOLICULOGÊNESE	39
2.4 MORFOGÊNESE TESTICULAR	40
2.5 PERFIL HORMONAL	42
2.6 NUTRIÇÃO E DESENVOLVIMENTO GONADAL	46
OBJETIVOS	48
GERAL	48
ESPECÍFICOS	48
HIPÓTESES	49
3 MATERIAL E MÉTODOS	50
3.1 ANIMAIS	50
3.2 COLETA DAS AMOSTRAS	50
3.3 COLETA E PROCESSAMENTO DE GÔNADAS FETAIS E OVÁRIOS MATERNOS	51
3.4 QUANTIFICAÇÃO FOLICULAR MATERNA	52
3.5 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DOS OVÁRIOS E TESTÍCULOS FETAIS	52
3.6 CLASSIFICAÇÃO FOLICULAR	53
3.7 QUANTIFICAÇÃO DA POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA FETAL	54
3.8 CLASSIFICAÇÃO DAS CÉLULAS PRESENTES NO TESTÍCULO	58
3.9 QUANTIFICAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS GERMINATIVAS, DE SERTOLI E DE LEYDIG NO TESTÍCULO FETAL	58
3.10 COLETA DE SANGUE	60
3.11 QUANTIFICAÇÃO HORMONAL	60
3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
4 RESULTADOS	62
4.1 VARIÁVEIS MATERNAS	62
4.2 DURANTE TODA A GESTAÇÃO	69

4.2.1 FÊMEAS	69
4.2.2 MACHOS	75
4.3 TERCEIRO MÊS GESTACIONAL	83
4.3.1 FÊMEAS	83
4.3.2 MACHOS	88
4.4 QUARTO MÊS GESTACIONAL	93
4.4.1 FÊMEAS	93
4.4.2 MACHOS	98
4.5 QUINTO MÊS GESTACIONAL	103
4.5.1 FÊMEAS	105
4.5.2 MACHOS	108
4.6 SEXTO MÊS GESTACIONAL	114
4.6.1 FÊMEAS	114
4.6.2 MACHOS	119
4.7 SÉTIMO MÊS GESTACIONAL	124
4.7.1 FÊMEAS	124
4.7.2 MACHOS	129
4.8 OITAVO MÊS GESTACIONAL	136
4.8.1 FÊMEAS	136
4.8.2 MACHOS	141
 5 DISCUSSÃO.....	 147
5.1 DESENVOLVIMENTO GONADAL	147
5.1.1 FÊMEAS	147
5.1.2 MACHOS	148
5.2 CORRELAÇÃO DAS VARIÁVEIS MATERNAS COM O DESENVOLVIMENTO GONADAL	151
5.2.1 REVESTIMENTO DE GORDURA NA CARÇAÇA, PESO DA CARÇAÇA E IDADE MATERNA.....	152
5.2.2 LEPTINA, INSULINA E PROGESTERONA MATERNA	155
5.2.3 POPULAÇÃO DE FOLÍCULOS TOTAIS E ANTRAIS MATERNOS.....	159
 6 CONCLUSÃO	 161
 7 AGRADECIMENTOS.....	 161
 8 REFERÊNCIAS.....	 162

ABREVIATURAS

AMH=Hormônio Anti-Mulleriano

CG=Células germinativas

CGP=Células germinativas primordiais

CL=Células de Leydig

CS=Células de Sertoli

CV=Coeficiente de variação

FIV=Fertilização *in vitro*

FSH=Hormônio folículo estimulante

GnRH=Hormônio gonadotrópico

HHG=Hipotálamo-hipófise-gônada

IGF=Fator de crescimento semelhante a insulina

LH=Hormônio luteinizante

P4=Progesterona

PC=Peso de carcaça

PFOA=População de folículos ovarianos antrais

PFOT=População folicular ovariana total

QFOF=Quantidade de folículos ovarianos fetais

RGC=Revestimento de gordura na carcaça

RIA=Radioimunoensaio

SOP=Síndrome do ovário policístico

TE=Transferência de embriões

LISTA DE FIGURA

Figura 1- A: Folículos primordiais. B: Folículos primários. C: Folículo secundário. D: Folículo terciário ou antral	54
Figura 2- Comparação entre as metodologias de Diniz et al., (2005) e Tanaka et al., (2001) com a de Silva, (2009) para estimativa da população folicular ovariana fetal.....	57
Figura 3- A- Célula de Sertoli. B- Célula de Leydig. C- Célula germinativa.	58
Figura 4- Correlação entre a idade materna e o peso de carcaça de 372 vacas da raça Nelore	64
Figura 5- Correlação entre a idade materna e o escore de revestimento de gordura na carcaça de 372 vacas da raça Nelore	64
Figura 6- Média e desvio padrão do peso da carcaça de 372 vacas Nelore prenhes, abatidas com diferentes idades (anos)	64
Figura 7- Média e desvio padrão do escore de revestimento de gordura na carcaça de 372 vacas Nelore prenhes, abatidas com diferentes idades (anos).	64
Figura 8- Correlação entre o peso de carcaça e o escore de revestimento de gordura na carcaça de 372 vacas da raça Nelore.	65
Figura 9- Média e desvio padrão do peso de carcaça (kg) de 372 vacas Nelore prenhes abatidas de acordo com o revestimento de gordura na carcaça.	65
Figura 10- Correlação entre quantidade de folículos ovarianos totais e a quantidade de folículos ovarianos antrais de 372 vacas da raça Nelore prenhes.....	65
Figura 11- Média e desvio padrão da idade materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore durante os diferentes meses de gestação.	65
Figura 12- Correlação entre a idade das vacas e a concentração plasmática de insulina de 372 vacas da raça Nelore prenhes de fetos machos.	66

Figura 13- Correlação entre o escore de revestimento de gordura na carcaça e a concentração plasmática de insulina de 162 vacas da raça Nelore prenhes de fetos machos.....	66
Figura 14- Média e desvio padrão da concentração plasmática de insulina materna de 209 vacas prenhes de fetos fêmeas e 162 vacas prenhes de fetos machos.	66
Figura 15- Média e desvio padrão da concentração plasmática de insulina materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore, durante os diferentes meses de gestação.....	66
Figura 16- Correlação entre a idade materna e a concentração plasmática de progesterona de 372 vacas da raça Nelore prenhes.	67
Figura 17- Média e desvio padrão da concentração plasmática de progesterona materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore durante os diferentes meses de gestação.....	67
Figura 18- Correlação entre o peso de carcaça e a concentração plasmática de insulina de 372 vacas da raça Nelore prenhes	67
Figura 19- Média e desvio padrão da concentração plasmática de leptina materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore durante os diferentes meses de gestação.....	67
Figura 20- Correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o peso e volume ovariano fetal de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses.....	71
Figura 21- Quantidade de folículos totais, primordiais, em crescimento e terciários nos ovários de 210 fetos fêmeas, de acordo com o mês de gestação.....	71
Figura 22- Correlação entre a quantidade de folículos antrais no ovário fetal e o peso e volume ovariano fetal de 112 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis a oito meses.....	72
Figura 23- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais materna e a quantidade de folículos ovarianos fetal de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	72
Figura 24- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a população folicular ovariana fetal de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	73

Figura 25- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli nos testículos fetais e o peso e o volume testicular fetal de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses.....	77
Figura 26- Correlação entre a quantidade de células de Leydig nos testículos fetais e o peso e o volume testicular de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses.....	77
Figura 27- Correlação entre a quantidade de células de germinativas nos testículos fetais e o peso e o volume testicular de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses.....	78
Figura 28- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e o peso e o volume testicular de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses.....	78
Figura 29- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células de Sertoli, de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	79
Figura 30- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células de Leydig, de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	79
Figura 31- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas, de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	79
Figura 32- Média e desvio padrão da concentração plasmática de testosterona de 162 fetos machos de acordo com o mês de gestação. 79	
Figura 33- Correlação entre a idade materna e a quantidade de células germinativas de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	80
Figura 34- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais materna e a quantidade de células de Sertoli de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	80
Figura 35- Correlação entre concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Sertoli de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	80
Figura 36- Correlação entre concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Leydig de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses	80

Figura 37- Correlação entre concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células germinativas de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses,.....	81
Figura 38- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso e o volume ovariano de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses.....	83
Figura 39- Correlação entre a concentração de leptina plasmática materna e a população folicular ovariana fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses.....	84
Figura 40- Correlação entre a concentração de insulina plasmática materna e a população folicular ovariana fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses.....	85
Figura 41- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli e o peso e o volume testicular de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses	89
Figura 42- Correlação entre a quantidade de células de Leydig e o peso e o volume ovariano de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses	89
Figura 43- Correlação entre a quantidade de células de germinativas e o volume testicular fetal de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses	90
Figura 44- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso e o volume ovariano de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	94
Figura 45- Correlação entre a quantidade de células germinativas no ovário fetal e o volume dos ovários fetais de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	94
Figura 46- Correlação entre a concentração plasmática de progesterona materna e a quantidade de folículos ovarianos primordiais de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	95
Figura 47- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos antrais materna e a quantidade de folículos ovarianos primordiais de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	95

Figura 48- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli e o peso e o volume testicular de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	99
Figura 49- Correlação entre a quantidade de células de Leydig e o peso e o volume testicular de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	99
Figura 50- Correlação entre a quantidade de células germinativas e o volume testicular fetal de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses.....	100
Figura 51- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso e o volume ovariano fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	104
Figura 52- Correlação entre a idade materna e a quantidade folicular ovariana fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	104
Figura 53- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de folículos ovarianos totais fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses	105
Figura 54- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos antrais materno e a quantidade de folículos ovarianos secundários fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses	105
Figura 55- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	109
Figura 56- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	109
Figura 57- Correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o volume testicular de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses	110
Figura 58- Correlação entre a idade materna e a quantidade de células de Sertoli no testículo de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	110

Figura 59- Correlação entre a idade materna e a quantidade de células de Leydig no testículo de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	110
Figura 60- Correlação entre quantidade folículos antrais materna e a quantidade de células de Sertoli no testículo de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	110
Figura 61- Correlação entre a quantidade de folículos antrais materna e a quantidade de células germinativas no testículo de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses	111
Figura 62- Correlação entre concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas no testículo de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses	111
Figura 63- Correlação entre o peso de carcaça materna e a concentração plasmática de testosterona de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	111
Figura 64- Correlação entre a concentração plasmática de leptina materna e a concentração plasmática de testosterona de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses.....	111
Figura 65- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso e o volume ovariano de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses.....	115
Figura 66- Correlação entre o peso de carcaça materno e a quantidade de folículos ovarianos totais de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses.....	115
Figura 67- Correlação entre a concentração de insulina plasmática materna e a população de folículos em crescimento de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses	116
Figura 68- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses.....	120
Figura 69- Correlação entre a quantidade de células de germinativas no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses	120

Figura 70- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli do testículos fetal e o volume testicular de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses.....	121
Figura 71- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas no testículo de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses	121
Figura 72- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso e o volume ovariano de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	125
Figura 73- Correlação entre a população de folículos terciários no ovário fetal e o peso e o volume ovariano de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	125
Figura 74- Correlação entre o revestimento de gordura na carcaça materna e a quantidade de folículos ovarianos totais de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses	126
Figura 75- Correlação entre a concentração plasmática de progesterona materna e a quantidade de folículos ovarianos totais de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses	126
Figura 76- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses	131
Figura 77- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses	131
Figura 78- Correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	132
Figura 79- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais maternos e a quantidade de células germinativas no testículo de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses..	132
Figura 80- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos antrais maternos e a quantidade de células de Sertoli no testículo de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	133

Figura 81- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Sertoli no testículo de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	133
Figura 82- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Leydig no testículo de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	133
Figura 83- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células germinativas no testículo de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses.....	133
Figura 84- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso e o volume ovariano de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses.....	136
Figura 85- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais materna e a quantidade de folículos ovarianos totais de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses	137
Figura 86- Correlação entre a idade materna e a quantidade de folículos em crescimento de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses	138
Figura 87- Correlação entre a concentração plasmática de leptina materna e a quantidade de folículos em crescimento de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses	138
Figura 88- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses	142
Figura 89- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses.....	142
Figura 90- Correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o peso e o volume testicular de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses.....	143
Figura 91- Correlação entre quantidade de folículos ovarianos antrais materna e a quantidade de células de Sertoli nos testículos de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses.....	143

Figura 92- Correlação entre quantidade de folículos ovarianos antrais materna e a quantidade de células de Leydig nos testículos de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses.....144

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Média e desvio padrão do diâmetro do oócito e do núcleo de cada tipo folicular nos diferentes meses de gestação. 57

Tabela 2- Media e desvio padrão do diâmetro do núcleo das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o mês de gestação. 59

Tabela 3- Correlação entre as diferentes variáveis maternas, de 368 vacas prenhes (210 de fetos fêmeas e 168 de fetos machos), com período gestacionais entre três e oito meses. 68

Tabela 4- Correlações entre os diferentes tipo de folículos presentes nos ovários fetais com as diferentes variáveis maternas, com o peso e volume fetal, de 210 fetos bovinos, com idade gestacional de três a oito meses. 74

Tabela 5- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além da concentração plasmática de testosterona, peso e volume testicular fetal de 168 fetos bovinos da raça Nelore, entre três e oito meses de gestação. 82

Tabela 6- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com três meses de gestação. 86

Tabela 7- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore de três meses gestacionais, de acordo com a quantidade de folículos antrais, o peso de carcaça e o revestimento de gordura na carcaça maternos. 87

Tabela 8- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore de três meses gestacionais de acordo com a idade materna. 87

Tabela 9- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com três meses de gestação. 91

Tabela 10- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, de acordo com o peso de carcaça,

revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 92

Tabela 11- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, de acordo com a idade materna. 92

Tabela 12- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com quatro meses de gestação. 96

Tabela 13- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas. 97

Tabela 14- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipo foliculares presentes nos ovários de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, de acordo com a idade materna..... 98

Tabela 15- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com quatro meses de gestação. 101

Tabela 16- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas. 102

Tabela 17- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, de acordo com a idade materna..... 102

Tabela 18- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com cinco meses de gestação.... 106

Tabela 19- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore,

com idade gestacional de cinco meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 107

Tabela 20- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, de acordo com a idade materna. 107

Tabela 21- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com cinco meses de gestação. 112

Tabela 22- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 113

Tabela 23- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 113

Tabela 24- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com seis meses de gestação..... 117

Tabela 25- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 118

Tabela 26- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, de acordo com a idade materna. 119

Tabela 27- Correlações entre os diferentes tipos de células nos testículos fetais com as variáveis maternas, além da concentração plasmática de testosterona e do peso e do volume ovariano fetal de 37 fetos bovinos da raça Nelore, com seis meses de gestação..... 122

Tabela 28- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 37 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 123

Tabela 29- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 37 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, de acordo com a idade materna. 123

Tabela 30- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com sete meses de gestação. 127

Tabela 31- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de o sete meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas. 128

Tabela 32- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, de acordo com a idade materna. 129

Tabela 33- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 31 fetos bovinos da raça Nelore, com sete meses de gestação. 134

Tabela 34- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 31 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas. 135

Tabela 35- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 31 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, de acordo com a idade materna. 135

Tabela 36- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com oito meses de gestação. 139

Tabela 37- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 140

Tabela 38- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, de acordo com a idade materna. 141

Tabela 39- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com cinco meses de gestação.... 141

Tabela 40- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 18 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas..... 146

Tabela 41- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 18 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, de acordo com a idade materna. 146

INFLUÊNCIA MATERNA NAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE OVÁRIOS E TESTÍCULOS DE FETOS BOVINOS DA RAÇA NELORE

RESUMO

Estudar o desenvolvimento das gônadas, permite entender alguns fatores que podem interferir no seu desenvolvimento e futuramente no perfil reprodutivo do animal na vida adulta. Considerando a influência da condição corporal e fisiológica das vacas sobre o desenvolvimento dos órgãos fetais durante a gestação, este trabalho avaliou o desenvolvimento morfológico testicular e ovariano de fetos bovinos da raça Nelore e comparou-os com a condição corpórea materna (revestimento de gordura – RGC; e peso da carcaça – PC; idade, população folicular ovariana total – PFOT; e antral - PFOA). Foram coletados 372 fetos (210 fêmeas e 168 machos), com idade gestacional de 3 a 8 meses, de bovinos da raça Nelore, abatidos em frigorífico da região de Araçatuba, SP. Amostras de sangue das vacas foram coletadas para quantificação de leptina, insulina e progesterona plasmática. O peso (g) e o volume (mm^3) das gônadas fetais foram mensurados. As gônadas fetais foram processadas com técnica de histologia clássica e foram feitos cortes histológicos de 3 μm de espessura, em intervalos médios de 210 μm . Durante toda a gestação o peso e o volume total dos ovários dos fetos apresentam correlação positiva com a quantidade de folículos ovarianos fetais (QFOF) ($r=0,78$, $p<0,0001$ e $r=0,80$, $p<0,0001$) e o peso e volume testicular com a quantidade de células de Sertoli (CS; $r=0,84$, $p<0,0001$ e $r=0,92$, $p<0,0001$), de Leydig (CL; $r=0,80$, $p<0,0001$ e $r=0,90$, $p<0,0001$) e

germinativas (CG; $r=0,84$, $p<0,0001$ e $r=0,93$, $p<0,0001$). A idade materna foi correlacionada com a quantidade de folículos ovarianos primários ($r=0,14$, $p=0,05$) e de CG nos testículos fetais ($r=0,10$, $p=0,04$). A PFOT foi correlacionada negativamente nas fêmeas com a QFOF ($r=-0,31$, $p=0,001$) e nos machos com a quantidade de CS nos testículos ($r=0,18$ e $p=0,03$), e a insulina das vacas com a QFOF ($r=-0,18$ e $p=0,02$) e com a quantidade de CS ($r=-0,24$ e $p=0,005$), CL ($r=-0,25$ e $p=0,004$) e CG ($r=-0,25$ e $p=0,005$) nos testículos dos machos. Concluiu-se então que o RGC, a idade, o PC, a PFOT e a PFOA maternos influenciam tanto na quantidade de folículos ovarianos quanto das células CS, CL e CG dos testículos fetais durante a gestação.

Palavras-chave: prenhez, folículo ovariano, células de Sertoli, células intersticiais do testículo, células germinativas.

MATERNAL INFLUENCE IN NELORE BREED BOVINE FETAL OVARIAN AND TESTICULAR MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS

SUMMARY

The study of gonadal development allows to understand some factors that can interfere in its development and, in the future, in animal reproductive profile, in adult life. Considering the cow's body condition and physiological influences on the development of fetal organs during pregnancy, this experiment aimed to evaluate the fetal testicular and ovarian morphological development in beef cattle of Nelore breed and compare it to maternal body condition (carcass weight – CW, carcass yield grade – CYG, age and antral follicle counts – ACF). There were collected 372 bovine fetuses from Nelore cows (210 females and 162 males), aging between 3 and 8 months, obtained from a slaughterhouse in Araçatuba region – SP. Blood samples from the cows were collected to leptin, insulin and progesterone plasma quantification. The gonadal weight (g) and volume (mm^3) were measured. The fetal gonads were submitted to classical histology procedures and 3 μm thickness were cut, in 210 μm intervals. During gestation, both fetus ovarian weight and volume were correlated with the number of ovarian follicles (NOF) ($r=0,78$, $p<0,0001$ and $r=0,80$, $p<0,0001$) and in male, both testicular weight and volume were correlated with Sertoli cells count (SC; $r=0,84$, $p<0,0001$ and $r=0,92$, $p<0,0001$), Leydig cells count (LC; $r=0,80$, $p<0,0001$ and $r=0,90$, $p<0,0001$) and germ cells count (GC; $r=0,84$, $p<0,0001$ and $r=0,93$, $p<0,0001$). Maternal age was correlated with primary follicles count ($r=0,14$, $p=0,05$) in the fetal ovaries and with GC

($r=0,10$, $p=0,04$) in the fetal testis. The maternal total follicle count (TFC) was negatively correlated with NOF ($r=-0,31$, $p=0,001$) in the fetal ovaries and positively with GC in the fetal testis ($r=0,18$, $p=0,03$), maternal insulin plasmatic concentration was negatively correlated with NOF ($r=-0,18$, $p=0,02$) in ovaries and with SC ($r=-0,24$, $p=0,005$), LC ($r=-0,25$, $p=0,004$) and GC ($r=-0,25$, $p=0,005$) in the testis. We concluded that (CW, CYG, age, AFC and TFC have influence in the number of fetal follicles count, and on fetal testis in SC, LC and GC count during the pregnancy.

Key-words: animal pregnancy, ovarian follicle, Sertoli cells, testicular interstitial cells, germ cells.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um rebanho com cerca de 209,79 milhões de bovinos, apresentando cerca de 76,12 milhões de fêmeas (62,6 milhões de vacas e 13,5 milhões de novilhas $\geq$ 24 meses) em idade reprodutiva e 133,07 milhões de machos, sendo a Nelore, a principal raça de corte criada no país, correspondendo a 80% do rebanho brasileiro (ANUALPEC, 2013).

As falhas na reprodução são um dos mais importantes fatores que limitam o desempenho da pecuária de corte brasileira (PESSUTI; MESSADRI, 2004). Porém este ramo da economia nacional tem tido uma demanda crescente de animais com alto valor genético, impulsionando assim o uso de biotecnologias avançadas, notadamente àquelas associadas à reprodução animal. Alterações decorrentes do período fetal podem trazer grandes prejuízos ao sistema produtivo, principalmente por não permitir que o animal demonstre no seu fenótipo toda a capacidade genotípica que possui, causando uma pobre seleção em programas de inseminação (REYNOLD et al., 2010).

Distúrbios do período fetal podem trazer efeitos a longo prazo na saúde animal na vida adulta (REYNOLDS; CATON, 2012), sendo assim, o conhecimento do desenvolvimento pré-natal de gônadas pode fornecer informações importantes sobre o futuro perfil fisiológico e reprodutivo do animal. No entanto, a maioria dos estudos encontrados na literatura, foi realizada com raças taurinas (*Bos taurus taurus*).

Em fêmeas, vários estudos indicam que a fertilidade de vacas pode ser comprometida em animais com baixa contagem folicular nos ovários, promovendo efeitos deletérios na maturação e desenvolvimento dos oócitos devido à alta concentração de estradiol intrafolicular (IRELAND et al, 2009). Em humanos, o número de folículos ovarianos antes da superovulação, para tratamentos de fertilização in vitro (FIV) e transferência de embriões (TE), tem sido considerado como preditor da resposta ovariana à estimulação de gonadotrofinas (BECKERS et al, 2002). Em bovinos leiteiros, o número de folículos ovarianos antes do tratamento superovulatório tem sido correlacionado com o número de folículos e corpos lúteos depois da superovulação e o total de oócitos viáveis recuperados (TANEJA et al, 2000). Em bovinos de corte ainda são escassas as informações para determinar as causas sobre a variação folicular ovariana existente, sendo necessária a realização de mais estudos.

Em machos, o conhecimento da espermatogênese e fisiologia testicular é fundamental para a compreensão dos processos que definem a capacidade de produção espermática e a identificação de causas potenciais de infertilidade e subfertilidade (AGUIAR et al., 2006). Segundo Sharpe et al. (1994) as células de Sertoli resultantes da fase fetal determinam a quantidade de células germinativas que se formarão na espermatogênese, ou seja, o volume de produção espermática do animal na vida adulta. Além disso, a massa testicular, que também pode ser utilizada para estimar a capacidade de produção espermática pelo parênquima testicular, pode ser correlacionada com a qualidade do

sêmen do animal (GUERRA et al., 2013). Sabe-se que o tamanho testicular do touro é altamente correlacionado com a idade em que sua filha entrará na puberdade (MOSER et al., 1996), e também com o diâmetro escrotal que terá sua progênie macho (BRINKS et al., 1978).

Pesquisas demonstram que o desempenho reprodutivo de animais na vida adulta é determinado por diversos fatores ambientais e maternos que atuam em diferentes fases do desenvolvimento desde a concepção até após o nascimento (DU et al, 2010, RHIND et al., 2001). A nutrição materna interfere no crescimento, desenvolvimento e funcionalidade da maioria dos sistemas de órgãos fetais (REYNOLDS; CATON, 2012), incluindo os ovários (MOSSA et al., 2013), testículos (CATON; HESS, 2010), glândula mamária (DU et al, 2010), fígado (REYNOLDS et al., 2010), intestino delgado (DU et al., 2011), sistema cardiovascular (MOSSA et al., 2013) e sistema músculo esquelético (DU et al., 2010). O crescimento prenatal é muito sensível à variação na ingestão de nutrientes pela mãe principalmente nos estágios embrionários iniciais (ROBINSON et al., 1999).

Nos estágios iniciais do desenvolvimento fetal, o desenvolvimento das gônadas pode ser influenciado e até interrompido por subnutrição e nas fêmeas o início da meiose do oócito pode ser atrasado (RHIND et al., 2001). Em ratas, a função ovariana fetal foi influenciada pelo status nutricional e clínico materno, e o declínio da população folicular ovariana acarretou mudanças nas taxas de ovulação e início precoce da menopausa (SLOBODA et al., 2009).

Em machos, a concentração plasmática de testosterona de cordeiros nascidos de ovelhas alimentadas com 150% do requerimento nutricional foi maior do que em cordeiros nascidos de animais controle (100% do requerimento nutricional) (ALEXANDER et al, 2009). Esta menor concentração de testosterona poderia ser responsável por um menor comportamento sexual na vida adulta (RESKO et al., 1999). Além disto, em estudo realizado por Ford et al. (2007) cordeiros nascidos de mães alimentadas com 50% do requerimento nutricional obtiveram menor massa magra e maior massa de gordura visceral aos 8 meses de idade se comparados daqueles que animais nascidos de mães sem restrição alimentar. He et al. (2013) também encontraram diferenças significativas entre o peso do timo, coração, abomaso e intestino delgado em cordeiros nascidos de mães submetidas a restrição alimentar durante a gestação.

Considerando que a condição corporal e energética das vacas influenciam o desenvolvimento dos órgãos fetais durante a gestação, a principal hipótese deste trabalho é que vacas com mais velhas, com maior peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e alta contagem de folículos antrais ovarianos tendem a gerar descendentes com maior população folicular nos ovários ou maior população de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos. O objetivo foi demonstrar a influência de parâmetros fisiológicos maternos no desenvolvimento dos ovários e testículos fetais de bovinos da raça Nelore.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Programação fetal

Atualmente existem inúmeros trabalhos que demonstram a relação entre fatores ambientais e o efeito no desenvolvimento fetal, principalmente no início da gestação. Este conceito, no qual fatores ambientais podem reorganizar ou alterar permanentemente os sistemas fisiológicos e comportamentais do animal, é chamado de programação fetal (MEANEY et al., 2007).

Durante a vida fetal e pós natal, o animal pode sofrer alterações irreversíveis no tecido ou na estrutura dos órgãos, além de possíveis mudanças permanentes na função tecidual, devido a alterações epigenéticas. Estes distúrbios podem resultar em efeitos na vida adulta do animal (HE et al., 2013).

Mudanças na estrutura durante o desenvolvimento fetal podem ser exemplificadas pelos músculos e ovários, uma vez que a quantidade de fibras musculares é estabelecida antes do nascimento (DU et al., 2010), assim como a quantidade de folículos ovarianos (WEBB et al., 2004). O número de fibras musculares e de folículos ovarianos são influenciados pela condição alimentar materna durante a gestação (DU et al., 2010; MOSSA et al., 2009).

Por outro lado, a alteração epigenética ocorrida durante a

gestação por meio da restrição alimentar materna é explicada pela epigenética, que se refere aos mecanismos de ativação ou supressão da expressão gênica independente da sequência de DNA genético (HE et al., 2013). Processos epigenéticos são influenciados por fatores ambientais e também hereditários (SKINNER et al., 2010).

2.2 Desenvolvimento gonadal

A gônada dos mamíferos é derivada das células germinativas da parede do saco vitelínico e das células do estroma do mesonéfron primitivo (ERICKSON; BLECHER, 2004). Em Humanos, durante a quarta e quinta semana do desenvolvimento embrionário ocorre a migração das células germinativas do saco vitelínico para a crista gonadal, e na sexta semana as células germinativas são incorporadas nas gônadas ainda não diferenciadas (SADLER, 2010). De acordo com Diniz et al. (2005), em bovinos, as células germinativas primordiais surgem no saco vitelino e migram via endoderma do intestino posterior até o mesentério, seguindo para as pregas mesonéfricas e finalmente para a crista gonádica.

Em humanos, a diferenciação gonadal ocorre na sétima semana de gestação (KOTA et al., 2014), para ambos os sexos, devido a diversos fatores genéticos (FROJDMAN et al., 1989). Nas fêmeas bovinas, pequenos conjuntos de células germinativas e intersticiais se formam, envoltos por uma membrana que possui áreas de contato com as células

dos cordões intersticiais (PARANKO, 1987). Largos conjuntos de cordões celulares são encontrados na zona medular do ovário (FROJDMAN et al., 1989). No início da diferenciação ovariana, o interstício é mais escasso se comparado ao testículo em desenvolvimento no mesmo período e por esta razão, os ovários apresentam menor crescimento de tamanho que os testículos (FROJDMAN et al., 1989).

Nos machos, os conjuntos de células germinativas se unem formando grandes e alongados cordões celulares (FROJDMAN et al., 1989). Estes cordões são envoltos por uma membrana formada por colágeno tipo III, IV e V, laminina e fibrinonectina (FROJDMAN et al., 1989). As citoqueratinas, provenientes das células de Sertoli, aumentam gradativamente junto com os componentes de membrana subepitelial, no mesmo período em que ocorre a formação da túnica albugínea, derivada da diferenciação do epitélio (ASLAN et al., 2004) e separam os cordões de células germinativas do epitélio testicular (PARANKO et al., 1986). A regressão do ducto paramesonéfrico é proveniente da diferenciação funcional das células de Sertoli, que produzem AMH (Hormônio Anti-Mülleriano) (LA MARCA; VOLPE, 2006). Concomitante ao crescimento dos cordões testiculares, há o crescimento e diferenciação do interstício, formado pelas células de Leydig, que ativam a produção de andrógenos, e células mióides (FROJDMAN et al., 1989).

2.3 Oogênese e Foliculogênese

Nas espécies domésticas, as fêmeas nascem com um estoque finito de oócitos, formado ainda no decorrer da vida fetal, como consequência de dois processos: a oogênese e a foliculogênese (WEBB et al., 2004). Durante o desenvolvimento embrionário ocorre a migração das células germinativas primordiais para a crista gonadal, seguida por sua diferenciação em oogônias (PEPLING, 2006).

Conforme descrito por Rüsse (1983), a oogênese em ruminantes consiste na formação e diferenciação das células germinativas primordiais (CGP) até o estágio de oócito haplóide fecundado. No interior da gônada em formação, as CGP iniciam sua diferenciação em oogônias e a oogênese termina antes ou logo após o nascimento, quando as oogônias entram em prófase da meiose, ou seja, tornam-se oócitos. De acordo com Erickson (1966) a oogênese inicia-se entre os dias 75 e 80 de gestação e encerra entre 150 e 180 dias (aproximadamente 170 dias) em vacas da raça Hereford. A oogênese na raça Nelore tem início e duração semelhantes à de raças taurinas (DINIZ et al., 2005).

Em relação à foliculogênese, a raça Nelore apresenta uma antecipação no período de seu surgimento, o que a difere das raças taurinas (DINIZ et al., 2005). A foliculogênese inicia-se desde a vida fetal até o final da vida reprodutiva, com processos cíclicos (AIRES, 2008) onde ocorrem a formação e seleção de folículos primordiais até o

desenvolvimento de folículos antrais, de Graaf ou pré ovulatórios (SAUMANDE, 1991). As fêmeas zebuínas produzem maior número de folículos que as taurinas (SENEDA et al., 2010), e apresentam maior quantidade de folículos menores que 5mm de diâmetro (SEGERSON et al., 1994). Por outro lado, Silva et al. (2009) não encontraram diferença estatística ($p>0,05$) entre a população folicular fetal entre diferentes espécies bovinas, nem tão pouco na quantidade de folículos ovarianos em novilhas de *Bos indicus* (Nelore) e *Bos taurus* (Angus).

Oócitos e folículos após formados, têm seu número reduzido consideravelmente a partir da segunda metade da gestação por perdas contínuas ao mecanismo de atresia folicular (DINIZ et al., 2005).

2.4 Morfogênese testicular

Os testículos, assim como os ovários, possuem dupla função: espermatogênese e secreção dos hormônios (HAFEZ, 2004). Sendo, a primeira estimulada pelo hormônio folículo estimulante (FSH) e aumentada pela ação dos andrógenos, principalmente a testosterona (HAFEZ, 2004), mas também pelas gonadotrofinas, fatores de crescimento (SHARPE, 1994) e o AMH (JACOMINI et al., 2007). Além disso, seu desenvolvimento depende do suporte funcional das células de Sertoli (MARTIN DU PAN; CAMPANA, 1993).

Dois mecanismos são responsáveis pela diferença anatômica, fisiológica e comportamental entre machos e fêmeas: o andrógeno

(testosterona), o qual determina o desenvolvimento do trato reprodutor masculino e o hormônio Anti-Mülleriano responsável pela supressão do ducto paramesonéfrico (Mülleriano), a partir do qual se desenvolvem o útero e a vagina (HAFEZ, 2004; LOVELL-BADGE, 1993). Segundo Cardoso (1977) a estrutura testicular é formada essencialmente por dois tipos celulares: células germinativas primordiais (CGP) que ocupam a área central dos testículos e as células de Sertoli (células de sustentação), delimitados por uma túnica própria formando os cordões seminíferos.

Neste período, as células de Sertoli estão funcionalmente imaturas, porém são proliferativas permitindo a formação de cordões celulares do epitélio seminífero, impedindo as células germinativas de entrarem em meiose e prevenindo a diferenciação e funcionalidade precoce das células de Leydig (MACKAY, 2000). De acordo com Sharpe, (1994) o número resultante das fases proliferativas das células de Sertoli é o que determina a quantidade de células germinativas que se formarão na espermatogênese, ou seja, determina o volume da produção espermática na vida adulta. Existe uma relação linear entre o número de células de Sertoli e a produção espermática diária (AMANN, 1970). Segundo Souza (2004) os espermatozoides são originados das células germinativas primordiais, diplóides, encontradas nos fetos em estágios iniciais do desenvolvimento.

Durante o desenvolvimento embrionário, as células germinativas primordiais do embrião migram do saco vitelínico para as gônadas indiferenciadas (McLAREN, 2000). Depois de atingir a gônada fetal, as

células primordiais dividem-se várias vezes antes de formar os gonadócitós, que se multiplicam e se diferenciam em espermatogônias e posteriormente em espermatozóides (AGUIAR et al., 2006). Ao contrário das fêmeas, os machos possuem uma população celular em constante processo de mitose no decorrer de toda a vida (SOUZA, 2004).

Em bovinos, a secreção de gonadotrofinas tem início aos 45 dias de idade e, as células de Leydig fetais são rapidamente estimuladas pelo hormônio luteinizante (LH) e a testosterona até a regressão da função gonadotrófica (HAFEZ, 2004). No início da puberdade recomeça a secreção de gonadotrofinas e as células de Leydig são reativadas respondendo ao estímulo do LH (BOOCKFOR et al., 1983), produzindo testosterona e controlando a diferenciação e função das células de Sertoli (GRIFFIN, 1988).

No período fetal o hormônio mais importante é o FSH o qual age no desenvolvimento testicular, além da atuação, principalmente sobre a taxa de proliferação das células de Sertoli (SOUZA, 2004). Sharpe et al., (2003) relataram que a supressão do hormônio FSH reduz em até 40% o número total de células de Sertoli produzidas pelo indivíduo.

2.5 Perfil hormonal

A análise da concentração sérica de alguns hormônios tem sido utilizada como indicadores do tamanho da reserva folicular, como por exemplo, o hormônio anti-mülleriano (AMH) (BAARENDS et al., 1995; ELGYND et al., 2007; JAYAPRAKASAN et al., 2010; RICO et al., 2009).

Em machos, este hormônio é produzido pelas células de Sertoli e provoca a regressão do ducto de Müller, enquanto nas fêmeas, é produzido primariamente pelas células da granulosa de folículos viáveis em crescimento (LA MARCA; VOLPE, 2006).

O AMH já foi correlacionado com o número de folículos ovarianos em camundongos (KAVENAAR et al., 2006) e novilhas taurinas (IRELAND et al., 2008). Tem sido considerado o melhor marcador endócrino para a reserva folicular ovariana em humanos (GRUIJTERS et al., 2003; JAYAPRAKASAN et al., 2010; VISSER et al., 2006), além de um excelente preditor da resposta ovariana ao tratamento superovulatório em fertilizações in vitro. (ELGINDY et al., 2007).

Estudos in vitro com ratos machos demonstraram que o aumento na concentração de FSH potencializado pelo hormônio triiodotironina (T_3) estimularam a expressão de receptores de andrógenos nas células de Sertoli imatura, promovendo a maturação funcional destas células e suprimindo a produção do AMH (ARAMBEPOLA et al., 1998; SOUZA, 2004). Em ratos, o AMH pode ser considerado como marcador funcional das células de Sertoli fetais, coincidindo a atividade antimülleriana com o período inicial de diferenciação testicular, que envolve a organização das células intersticiais e de Sertoli, anterior à esteroidogênese (TRAN et al., 1977).

Novilhas com alta contagem de folículos antrais possuem menores concentrações séricas de FSH (BURNS et al., 2005; EVANS, et al., 2010) e de LH durante o ciclo estral (JIMENEZ-KRASSEL et al.,

2009). Isso pode ser explicado pelo fato de animais com menor número de folículos apresentarem maior concentração hormonal no fluido intrafolicular, diferindo assim o feedback negativo hormonal, dado pela maior produção de estradiol sérico que os de animais com maior população folicular (EVANS et al., 2010; IRELAND et al., 2009). Por outro lado, animais com baixa contagem folicular possuem baixas concentrações de AMH, progesterona e andrógenos, se comparados com animais de alta contagem folicular (EVANS et al., 2010).

Em machos o FSH eleva a taxa de proliferação das células de Sertoli ao passo que sua supressão reduz em 40% seu número final (SHARPE et al., 2003). Já é sabido que as células de Sertoli tem relação linear com a produção espermática diária (JONHSON, 1986) e regula indiretamente a quantidade de células germinativas na vida adulta (SOUZA, 2004).

Evans et al. (2010) compararam a concentração sérica de progesterona durante o ciclo estral entre vacas com alta e baixa contagem de folículos antrais e perceberam que os animais com menor número de folículos apresentavam concentração hormonal menor que os animais do outro grupo, concordando com os dados obtidos por Jimenez-Krassel et al. (2009). No decorrer da gestação, Nilsson e Skinner (2009) observaram que a formação dos folículos primordiais a partir dos nichos de oócito é iniciada, com a diminuição da progesterona no ovário fetal. O mesmo grupo de pesquisa, sugeriu que as concentrações de progesterona e estradiol no ovário fetal diminuem de acordo com o aumento da idade gestacional e regulam a formação de

folículos primordiais. Segundo Pepe et al. (2013) é com a diminuição da concentração de progetserona que ocorre o aparecimento dos folículos primordiais no ovário fetal.

Sabe-se que em folículos maiores de ruminantes, o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-1) e a insulina estimulam a proliferação e a mitogênese de células da granulosa e promovem a esteroidogênese induzida por FSH (WEBB et al., 2007). Acredita-se que mudanças nutricionais induzem alterações tanto nas concentrações séricas circulantes de insulina e de IGF-1 como o sistema IGF (I, II, IV) do fluido intraovariano que são importantes para o recrutamento folicular (WEBB; CAMPBELL, 2007). Como descrito por Buratini et al. (2000) há evidências que os sistemas ovarianos de insulina e de IGF de animais *Bos taurus indicus* diferem dos animais *Bos taurus taurus*. De acordo com Alvarez et al. (2000) elevadas concentrações de IGF-1 e baixas concentrações de FSH resultam em folículos dominantes menos persistentes, portanto em um maior número de ondas foliculares durante um ciclo estral, traduzindo-se em uma maior incidência de ciclos estrais com quatro ondas nos animais *Bos taurus taurus*.

Em machos os fatores de crescimento, regulam a proliferação de vários tipos celulares, influenciam o crescimento do trato reprodutivo, constituem o plasma seminal (ADASHI et al., 1991; EARP, 1991; RAPPOLEE et al., 1989), podem estimular a esteroidogênese testicular in vitro (SOUZA, 2004) além de permitirem a comunicação entre as células de Sertoli e as células germinativas (SOUZA, 2004). De acordo com Aumuller et al. (1990) a insulina e o IGF-I e II participam do

crescimento prostático in vitro. Flores et al. (1998) relataram que o IGF-I e II participam no controle da diferenciação, desenvolvimento e maturação das células germinativas. Glander et al. (1996) comprovaram que as concentrações de IGF-I no plasma seminal apresentam correlação positiva com a concentração espermática e com a proporção de espermatozoides humanos morfológicamente intactos.

2.6 Nutrição e desenvolvimento gonadal

Inadequada ingestão de energia e escore de condição corporal 2 (escala de 1 a 5) podem afetar negativamente a função reprodutiva (OWENS et al., 1993; SALMAN et al., 2006). Pesquisas recentes envolvendo nutrição e fertilidade de bovinos tem demonstrado a influência nutricional sobre eventos moleculares e celulares, que envolvem a produção de gametas, desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária (ALMEIDA et al., 2007), desenvolvimento embrionário, crescimento e implantação do concepto (BASTOS, 2008). Além disso, a concentração de alguns hormônios também pode sofrer alterações de acordo com o aporte nutricional recebido (FERREIRA et al, 2008; ROBINSON et al., 2006). Dentre os nutrientes que compõem a dieta animal, a energia é o que mais afeta a reprodução de fêmeas bovinas (SANTOS et al., 2006).

Da Silva et al. (2002) dizem que o número de folículos ovarianos de cordeiros em final de gestação é alterado devido à dieta materna modificar a expressão do gene de gonadotrofina promovendo assim um pobre crescimento da gônada fetal. Mossa et al. (2009) também encontraram menores números de folículos ovarianos em novilhas nascidas de vacas subnutridas. Além disso, a má nutrição materna no primeiro trimestre da gestação retarda o desenvolvimento ovariano fetal em ovelhas (BORWICK et al., 1997), já que este período é o que compreende o pico no número de folículos ovarianos fetais (IRELAND et al., 1966).

Uma grande variedade de dietas tem mostrado afetar não somente o crescimento folicular, mas também a qualidade do oócito (ARMSTRONG et al., 2001; BOLAND et al., 2001). Mudanças na ingestão de energia são capazes de influenciar negativamente a morfologia e a competência de oócitos.

As concentrações plasmáticas de insulina foram positivamente correlacionadas com a energia da dieta e foi proposto que este hormônio é um fator chave que modula os efeitos da nutrição sobre a função ovariana. Estes efeitos são explicados pelas observações que as células da granulosa do folículo bovino são dependentes de concentrações fisiológicas de insulina (GLISTER et al., 2001; GUTIERREZ et al., 1997) e que a infusão de insulina em novilhas de corte aumenta o diâmetro de folículos dominantes (SIMPSON et al., 1994).

A ingestão de nutrientes age em vários níveis do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal afetando fatores de crescimento de

origem sistêmica ou local que controlam direta ou indiretamente a função ovariana materna e a produção embrionária (Da SILVA et al., 2002). Recentes evidências mostraram plausível a existência do efeito da nutrição sobre o desenvolvimento fetal do ovário (ALMEIDA et al., 2007).

No caso dos touros, a avaliação reprodutiva é comumente estimada pela avaliação morfométrica das gônadas que, segundo Martin et al. (1994), podem variar em função do manejo nutricional. Restle et al. (1999) relatam que os órgãos genitais têm prioridade na utilização dos nutrientes nas fases de desenvolvimento sexual. São necessárias mais informações detalhadas sobre a influência do aporte nutricional na fase de desenvolvimento sexual fetal do animal.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar a influência materna nas características morfológicas testiculares e ovarianas em fetos bovinos da raça Nelore.

Específicos

- Caracterizar o desenvolvimento pré-natal da gônada fetal (feminina e masculina) de acordo com o mês de gestação dos bovinos da raça Nelore;
- Correlacionar o peso de carcaça, o revestimento de gordura na carcaça, a idade e a população folicular ovariana das vacas com a população folicular ou de células germinativas, de Sertoli e de Leydig dos respectivos fetos;

- Correlacionar a concentração plasmática de insulina, progesterona e leptina das vacas com a população folicular ou de células germinativas, de Sertoli e de Leydig dos respectivos fetos;

HIPÓTESES

- Vacas com maior concentração plasmática de insulina, leptina e progesterona apresentam fetos com maior número de folículos ovarianos (fêmeas) ou células germinativas, células de Sertoli e de Leydig (machos) durante a gestação;
- Vacas com menor peso de carcaça, escore revestimento de gordura na carcaça, idade e população folicular ovariana apresentam fetos com menor número de folículos ovarianos (fêmeas) ou células germinativas, células de Sertoli e de Leydig (machos) durante a gestação;
- Fetos machos com alta população de células germinativas, células de Sertoli e de Leydig apresentam maior concentração sérica de testosterona.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados materiais colhidos de 378 vacas da raça Nelore prenhes, abatidas no frigorífico na região de Araçatuba-SP (20° 53' 45" sul e 51° 22' 44" oeste). Foram obtidos 210 fetos fêmeas e 168 fetos machos (o sexo foi determinado por observação macroscópica da genitália externa dos fetos). O peso da carcaça quente (PC), escore de revestimento de gordura na carcaça (RGC) e idade das vacas foram determinados e informados pelo frigorífico. O RGC foi mensurado de acordo com a escala utilizada pelo frigorífico, classificada de 1 – 5, sendo escore 1: 0 mm de gordura, escore 2: 1 a 2mm, escore 3: 3 a 6mm, escore 4: 7 a 10mm e escore 5: > 10mm.

De acordo com o peso da carcaça (PC), as vacas foram classificadas em três grupos: Leve ($\leq 153 \pm 40$ kg), Intermediário (entre 205 ± 30 kg) e Pesado ($\geq 266 \pm 16$ kg).

3.2 Coleta das amostras

Foram coletados 210 fetos fêmeas e 168 machos, provenientes de vacas com características raciais da raça Nelore (ACBN, 2013). O comprimento dos fetos foi mensurado com uma fita métrica (graduada em mm) no momento da retirada dos animais do útero. Foi medido o comprimento entre a linha sagital externa do osso frontal e a primeira vértebra coccígea (medida *crown rump*) em centímetros. Este valor foi

inserido na fórmula para estimar idade fetal (REXROAD et al., 1974), $DG = 8,4 + 0,087C + 5,46\sqrt{C}$, onde DG= dias de gestação e C= comprimento do feto.

Os fetos foram agrupados de acordo com o mês da gestação. A quantidade de fetos fêmeas obtida por mês foi de: 24 no 3º mês, 46 no 4º mês, 24 no 5º mês, 51 no 6º mês, 45 no 7º mês e 19 no 8º mês, e de fetos machos foi de: 16 no 3º mês, 22 no 4º mês, 33 no 5º mês, 39 no 6º mês, 32 no 7º mês e 20 no 8º mês.

3.3 Coleta e processamento de gônadas fetais e ovários maternos

Os ovários das vacas e gônadas dos fetos foram colhidos e armazenados em recipientes de 100mL com tampa e o volume foi completado com paraformaldeído a 4% para preservação do tecido e fixação para análise histológica. Os pesos dos ovários fetais e maternos foram determinados em balança Mettler Toledo (AG285) posterior ao processo de fixação. As gônadas foram medidas em altura (a), largura (l) e espessura (e) em milímetros, com a utilização de paquímetro de aço (Brasfort) 160mm/6", com precisão de 0,02mm/0,001". Os respectivos volumes foram estimados utilizando a fórmula do elipsoide, por ser a estrutura geométrica que mais se assemelha com a forma dos ovários e testículos, sendo $V = 4/3\pi abc$ onde a=comprimento/2, b= largura/2 e c= altura/2.

3.4 Quantificação folicular materna

A quantificação da população folicular ovariana materna foi determinada pela contagem em Lupa Citoval 2 (aumento 0,63 – 6,3X, lente Carl Zeiss JEMA) de todos os folículos antrais contados na superfície ovariana. Foram utilizados 10 pares de ovários para confirmar que a quantificação dos folículos antrais observados na superfície ovariana correspondia com o número dos folículos observados na cortical do ovário, com o aparelho de ultrassom GE Logic α 100 equipado com transdutor de 5 MHz. O diâmetro dos folículos foi mensurado com a utilização do paquímetro (Brasfort) 160mm/6”, com precisão de 0,02mm/0,001”. De acordo com a PFOA (contagem de folículos antrais), as mães foram classificadas nos grupos Alta contagem (≥ 31 folículos antrais), Intermediária (16 a 30 folículos) e Baixa (≤ 15 folículos), considerando apenas os folículos de diâmetro maior ou igual a 2 mm. A classificação adotada foi adaptada de Seneda et al. (2010).

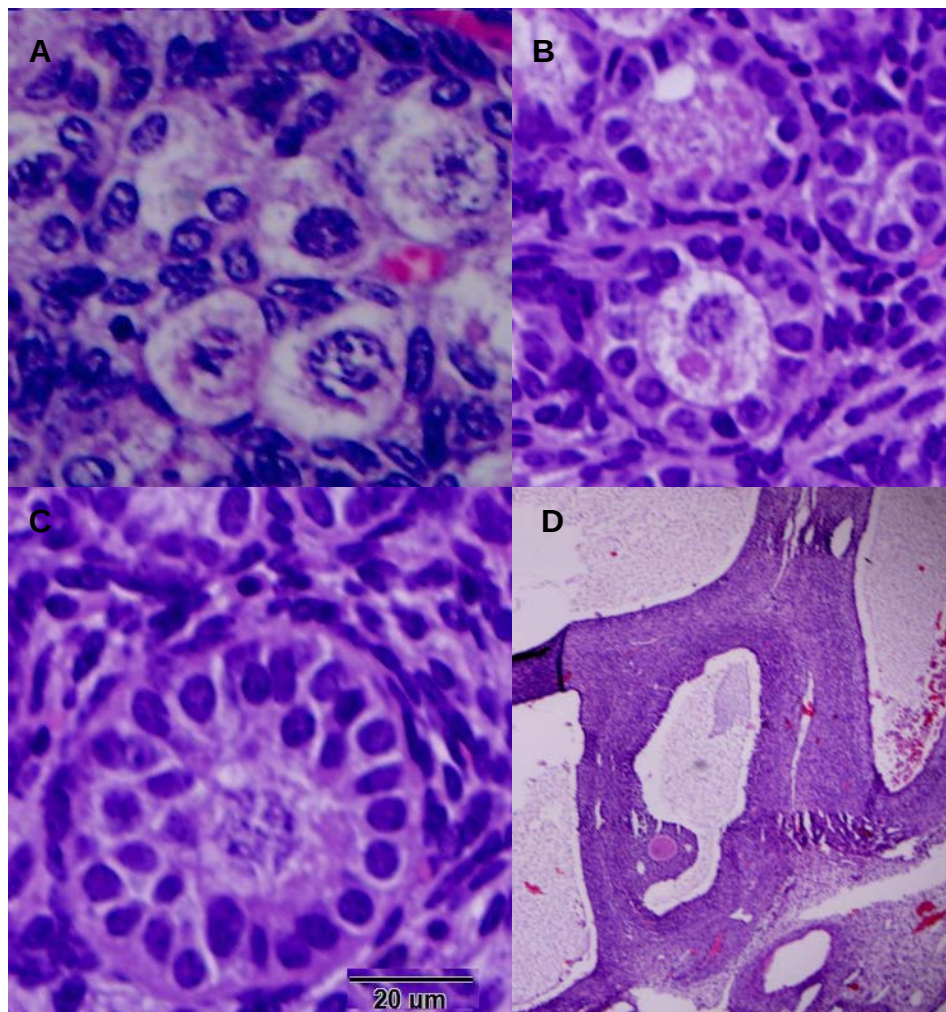
3.5 Processamento histológico dos ovários e testículos fetais

Os ovários e testículos fetais foram fixados em solução de paraformaldeído 4% desde o momento em que foram coletados. Passaram pelo processo de desidratação, em concentrações crescentes de álcool e em seguida pela diafanização em xilol. Por fim, foram embebidos em Paraplast[®] Plus (Sigma-Aldrich P3683). Após a

inclusão, foram realizados cortes seriados de 3µm de espessura com a utilização do micrótomo rotativo Leica (modelo RM1255). As lâminas histológicas foram montadas com intervalo médio de 210µm entre os cortes e coradas com Hematoxilina-Eosina (HE), metodologia adaptada de Ireland et al. (2008) e Jacomini et al. (2007). Após estes procedimentos, foi realizada a contagem dos folículos ovarianos nos ovários fetais e das células germinativas, de Sertoli e de Leydig nos testículos. Todas as etapas e metodologias foram realizadas pelo mesmo operador.

3.6 Classificação folicular

Os folículos foram classificados de acordo com características previamente descritas por Hafez (2004) e Slader (2010) (Figura 1).



Fonte: Arquivo pessoal (Souza, J.S, 2014)

FIGURA 1- **A:** Folículos primordiais com apenas uma camada de células da granulosa de formato plano ou achatado circundando o oócito. **B:** Folículos primários com uma camada de células da granulosa em formato cubóide envolvendo o oócito. **C:** Folículo secundário com duas ou mais camadas de células da granulosa em formato cubóide circundando o oócito. **D:** Folículo terciário ou antral com a presença de um antro, cavidade repleta de fluido folicular, além da presença de uma massa de células denominada de *cumulus oophorus* ou *corona radiata* que circundam o oócito (40X).

3.7 Quantificação da população folicular ovariana fetal

A morfometria dos folículos ovarianos foi analisada através dos cortes histológicos dos ovários, por microscópio de luz Olympus com

lente micromal PW10 (Japão) com objetiva de 40x, no qual também foi mensurado o diâmetro do oócito e do núcleo do mesmo em cada tipo folicular por mês de gestação (Tabela 1).

Nos ovários que não apresentaram folículos antrais nos cortes histológicos avaliados, a contagem folicular foi realizada por campos em cada lâmina histológica. Foi estipulada a contagem em seis campos do corte de maior diâmetro, representativo da maior área do ovário, preocupando-se em obter dois campos de cada zona do ovário (medular, cortical e intermediária) no sentido longitudinal no seu maior diâmetro. A média do número de cada tipo de folículo foi multiplicado pela espessura do corte ($3\mu\text{m}$) para se obter o número de folículos por μm^3 , que foram transformados em mm^3 , e posteriormente multiplicados pelo volume do ovário. Para evitar duplicidade na contagem do mesmo folículo em mais de uma seção e para corrigir o número de cortes em que uma estrutura pode ser incluída, o diâmetro dos folículos foi dividido pela espessura do corte e esse valor foi utilizado como divisor do número total do tipo de folículo contado. Como resultado, obteve-se o número total das estruturas do ovário fetal, metodologia foi adaptada de Tanaka et al. (2001) e Diniz et al. (2005), o diâmetro do oócito foi utilizado como referência para determinação da quantidade folicular.

Nos ovários fetais que apresentaram folículos antrais, foi adaptada a metodologia descrita anteriormente por Silva (2009). Nesses ovários quatro cortes histológicos de cada ovário foram examinados na totalidade, em microscópio de luz Olympus (Japão) com objetiva 40x e

cada tipo de folículo ovariano foi contado. A estimativa da população folicular ovariana total foi calculada através da fórmula

$$Nt = (No \times St \times ts) / (So \times do)$$

Onde,

Nt = número total calculado de um tipo de folículo

No= número total de folículos observados no ovário

St= número total de cortes feitos no ovário

ts= espessura do corte

So= número total de cortes observados

do= diâmetro médio do núcleo de cada tipo de folículo.

O diâmetro do núcleo do oócito foi utilizado como referência para determinação da quantidade folicular.

Para avaliar possíveis divergências entre as metodologias de contagem de população folicular, as duas foram realizadas no ovário de três fetos, com idades gestacionais de 4, 5 e 6 meses, e os resultados comparados com o teste *t* pareado ($P=0,06$) e não foi encontrada diferença entre os métodos, a variação observada entre as técnicas foi de 10% (Figura 2).

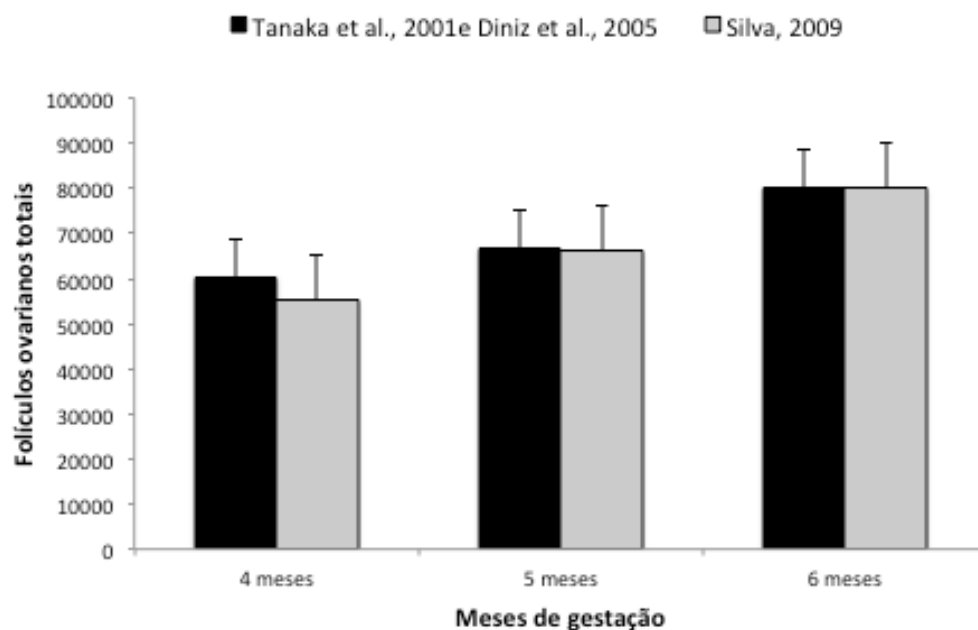


FIGURA 2- Comparação entre as metodologias de Diniz et al., (2005) e Tanaka *et al.*, (2001) com a de Silva, (2009) para estimativa da população folicular ovariana fetal com média e desvio padrão da quantidade folicular no quarto, quinto e sexto mês de gestação.

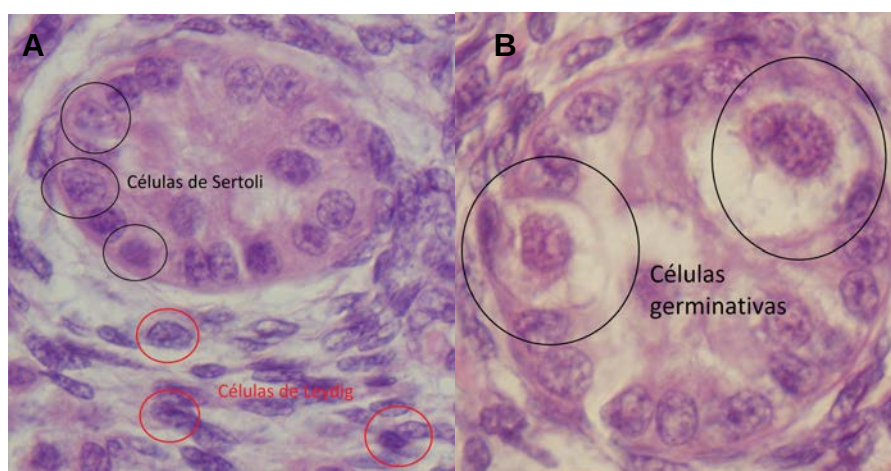
Tabela 1- Média e desvio padrão do diâmetro do oócito e do núcleo de cada tipo folicular nos diferentes meses de gestação

TIPO FOLICULAR	MÊS DE GESTAÇÃO											
	3		4		5		6		7		8	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
PRIMORDIAL												
Oócito	19,9 ± 1,57		22,2 ± 2,89		29,3 ± 3,4		23,9 ± 3,34		22,1 ± 1,12		22,5 ± 2,76	
Núcleo	11,3 ± 1,43		11,4 ± 1,27		16,8 ± 3,21		10,1 ± 1,6		11,2 ± 0,96		9,34 ± 1,04	
PRIMÁRIO												
Oócito	22 ± 2,75		23,7 ± 3,04		31,4 ± 1,98		28 ± 2,33		27,9 ± 3,21		20,1 ± 0,98	
Núcleo	11,3 ± 1,12		15,5 ± 1,32		17,7 ± 2,67		11,1 ± 1,43		11,2 ± 0,93		11,8 ± 1,34	
SECUNDÁRIO												
Oócito	...	...	...	...	46,5 ± 4,58		31,6 ± 3,76		27,7 ± 4,87		67,2 ± 5,07	
Núcleo	...	...	...	...	21 ± 1,31		13 ± 2,21		13,2 ± 1,42		14,4 ± 0,94	
TERCIÁRIO												
Oócito	...	...	...	...	...	...	54,8 ± 3,89		57,6 ± 4,24		61,2 ± 4,98	
Núcleo	...	...	...	...	...	...	22,4 ± 3,54		22 ± 3,78		21,9 ± 2,63	
CÉLULAS GERMINATIVAS												
Oócito	10,9 ± 0,78		9,13 ± 0,49		...	...	...	...	...	...	...	...
Núcleo	10,8 ± 0,63		8,89 ± 1,23		...	...	...	...	...	...	...	...

*DP= Desvio Padrão

3.8 Classificação das células germinativas, de Sertoli e de Leydig.

As células de Sertoli, de Leydig e germinativas foram classificadas de acordo com características previamente descritas por Junqueira e Cardoso (2004) e Jacomini (2007) (Figura 3).



Fonte: Arquivo pessoal (Souza, J.S, 2014)

FIGURA 3- A- Células de Sertoli (circuladas em preto), piramidais e envolvem parcialmente as células da linhagem espermatogênica, a base da célula adere a lâmina basal do túbulo seminífero, com limites mal definidos; e as células de Leydig (círculo vermelho), com forma arredondada ou poligonal, com núcleo central e citoplasma eosinofílico no tecido intersticial do testículo (100X). **B-** Células germinativas (circuladas em preto) situadas próximas a lâmina basal do epitélio, no interior dos túbulos seminíferos, são células grandes, arredondadas, de citoplasma amplo e levemente corado (100X).

3.9 Quantificação da população de células germinativas, de Sertoli e de Leydig no testículo fetal

A morfometria das células germinativas primordiais, de Sertoli e de Leydig foi analisada através dos cortes histológicos dos testículos,

por microscópio de luz Olympus com lente micromal PW10 (Japão) com objetiva de 100x, no qual foi mensurado o diâmetro do núcleo das células avaliadas (Tabela 2).

A contagem das células foi realizada por campos em cada lâmina histológica. Foi estipulada a contagem em seis campos do corte de maior diâmetro, representativo da maior área do testículo no sentido longitudinal. A média do número de cada tipo de célula analisado foi multiplicado pela espessura do corte (3 μ m) para se obter o número de células por μ m³, que foram transformados em mm³ e posteriormente multiplicados pelo volume do testículo. Para evitar duplicidade na contagem do mesmo tipo celular em mais de uma seção e para corrigir o número de cortes em que uma estrutura pode ser incluída, o diâmetro das células foi dividido pela espessura do corte e esse valor foi utilizado como divisor do número total do tipo de célula contada. Como resultado, obteve-se o número total das estruturas do testículo fetal, metodologia foi adaptada de Jacomini et al. (2007), o diâmetro do núcleo de cada tipo celular foi utilizado como referência para determinação da quantidade de células testiculares.

Tabela 2- Media e desvio padrão do diâmetro do núcleo das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o mês de gestação

MÊS DE GESTAÇÃO	TIPO CELULAR							
	SERTOLI			LEYDIG			CÉLULAS GERMINATIVAS	
	Média	DP		Média	DP		Média	DP
3	5,91	± 0,35		4,68	± 0,22		8,11	± 1,32
4	5,92	± 0,54		4,92	± 0,47		7,37	± 0,95
5	5,94	± 0,78		4,63	± 0,13		8,29	± 1,49
6	5,79	± 0,27		4,97	± 0,39		7,50	± 1,21
7	5,62	± 0,3		5,21	± 0,42		8,44	± 2,13
8	5,21	± 0,21		5,11	± 0,37		9,37	± 2,67

*DP= Desvio padrão

3.10 Coleta de sangue

Amostras de sangue da jugular das mães foram colhidas no momento da sangria, enquanto que as amostras dos fetos, foram colhidas do cordão umbilical durante a separação do feto com o útero materno, em tubos de ensaio (10 mL) com 200µl de EDTA (Vacutainer[®]) para as amostras maternas e com 50µl de EDTA (Vacutainer[®]) para as fetais. Foram mantidas refrigeradas até a separação do plasma por centrifugação a 2665 x g por 10 minutos a 4°C em centrífuga (Cientec Modelo CT-5000R). As frações plasmáticas foram aliquotadas em duplicata em tubos de 2ml (Axigen Scientific MCT-200B) e armazenadas em freezer a -20°C.

Foram realizadas as quantificações hormonais de progesterona, leptina e insulina nas amostras sanguíneas das vacas e de testosterona nas amostras dos fetos machos, através de radioimunoensaio.

3.11 Quantificação Hormonal

Os ensaios para quantificação da progesterona (P4) foram realizados utilizando kit de radioimunoensaio (RIA) Immunotech RIA Progesterone (IM1188), o coeficiente de variação (CV) inter-ensaio foi de 14,06% para o controle alto e 16,40% para o controle baixo, o CV intra-ensaio foi de 7,18% para o controle alto (5,87 ng/mL) e 1,66% para o controle baixo (1,63 ng/mL) e a sensibilidade do ensaio foi de 0,0052 ng/mL.

Os ensaios para quantificação da leptina bovina foram realizados utilizando o kit de RIA Multi-species (Millipore, Cat. # XL-85K) e o CV intra-ensaio foi de 12,55% para o controle alto (14,44 ng/mL) e 4,17% controle baixo (2,75 ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 19,42% para o controle alto e 2,49% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,079 ng/mL.

Os ensaios para quantificação da insulina bovina foram realizados utilizando o kit de radioimunoensaio Multi-species (Millipore, Cat. # XL-85K) e o CV intra-ensaio foi de 7,15% para o controle alto (49,06 ng/mL) e 0,00% controle baixo (12,67 ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 8,86% para o controle alto e 2,85% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 1,38 ng/mL.

Os ensaios para quantificação da testosterona bovina foram realizados utilizando o kit de RIA Immunotech (IM 1119) e o CV intra-ensaio foi de 2,25% para o controle alto (4,6 ng/mL) e 0,69% controle baixo (0,76 ng/mL), o CV inter-ensaio foi de 3,12% para o controle alto e 8,12% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios foi de 0,032 ng/mL.

3.12 Análise estatística

Para investigar a existência de correlação entre a população folicular materna, idade, RGC, peso da carcaça, concentrações de progesterona, insulina e leptina das mães com o peso e volume total dos ovários e testículos fetais, assim como com a população folicular

ovariana total dos fetos fêmeas e a população de células germinativas, de Sertoli e de Leydig dos testículos dos machos, durante a gestação, foi considerado o valor de $p < 0,05$ e foi utilizada a correlação de Spearman, uma vez que as variáveis não apresentaram distribuição normal.

Para a correlação das variáveis maternas e a quantidade de células e folículos fetais dentro dos diferentes grupos de idade gestacional (3 a 8 meses), foi utilizada a correlação linear de Pearson, já que dentro dos diferentes grupos de idade fetal houve distribuição normal dos dados.

Para a comparação da variância entre as médias dentro e entre cada grupo de idade gestacional, foi utilizado o teste One-way ANOVA. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados pelo programa SAS 6.3 (SAS, 2013, Institute, Cary, NC, USA). Os gráficos e análises de regressão foram realizados pelo programa estatístico GraphPad Prism 6.0.

4 RESULTADOS

4.1 Variáveis maternas

Foi observada correlação positiva entre a idade da vaca com o peso da carcaça (PC) ($r=0,33$ e $p < 0,0001$) (Figura 4), e com o escore de revestimento de gordura na carcaça (RGC) ($r=0,30$ e $p < 0,0001$) (Figura 5). As vacas com idade de oito anos possuíram maior PC e RGC que as vacas de dois e quatro anos ($p < 0,0001$ e $p < 0,0001$ respectivamente) (Figura 6 e 7). Foi observada correlação positiva entre o peso de

carcaça e o revestimento de gordura na carcaça das vacas ($r=0,37$ e $p<0,0001$) (Figura 8), os animais com RGC 4 possuíam maior peso na carcaça ($p<0,0001$) (Figura 9). Houve correlação positiva entre a quantidade de folículos ovarianos totais (antrais e pre-antrais) e o número de folículos antrais no ovário das vacas ($r=0,75$ e $p<0,0001$) (Figura 10). Não foram observadas correlações entre o PC, RGC, idade com a PFOT e a PFOA das vacas, os valores de p para cada correlação estão apresentados na Tabela 3.

A idade entre as vacas prenhes de fetos fêmeas e machos não diferiu ($p=0,13$), porém a média da idade das vacas foi maior no sétimo mês de gestação ($p=0,01$) (Figura 11). Porém houve correlação entre a idade e a concentração plasmática de insulina das vacas prenhes de fetos fêmeas ($r=0,18$; $p=0,02$) (Figura 12), mas não foi observada esta correlação em vacas prenhes de fetos machos ($p=0,76$).

Foi encontrada correlação positiva entre a concentração plasmática de insulina das vacas prenhes de fetos machos e o escore de revestimento de gordura destes animais ($r=0,23$ e $p=0,006$) (Figura 13), porém não foi observada esta correlação com as vacas prenhes de fetos fêmeas ($p=0,15$). A média da concentração plasmática de insulina das vacas prenhes de fetos fêmeas e de fetos machos não variou entre os meses de gestação ($p=0,59$) (Figura 14). A Figura 15 representa a média da concentração de insulina nos diferentes meses gestacionais ($p=0,20$). Foi observada correlação positiva entre o peso de carcaça e a concentração plasmática de insulina ($r=0,11$ e $p=0,04$) (Figura 16)

Foi observada correlação entre a concentração plasmática de progesterona e a idade das vacas ($r=0,12$ e $p=0,03$) (Figura 17) e não foi encontrada diferença na média da concentração de progesterona ($p=0,80$) nos diferentes meses de gestação (Figura 18). A concentração de leptina materna não diferiu entre os meses gestacionais ($p=0,61$) (Figura 19). Todas as correlações (valores de r e p) entre as variáveis maternas estão apresentadas na tabela 3.

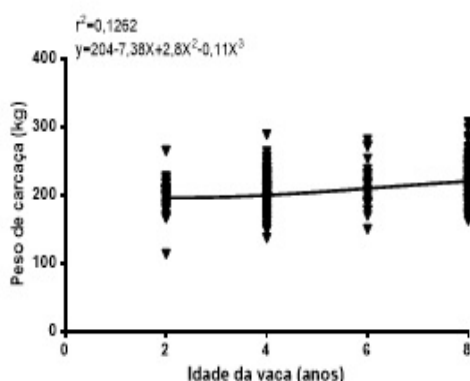


FIGURA 4- Correlação entre a idade materna e o peso de carcaça de 372 vacas da raça Nelore (2 anos, $n=54$; 4 anos, $n=169$; 6 anos= 28 ; 8 anos, $n=119$) com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,33$; $p<0,0001$).

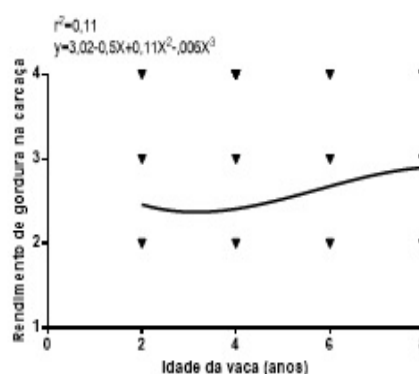


FIGURA 5- Correlação entre a idade materna e o escore de revestimento de gordura na carcaça de 372 vacas da raça Nelore (2 anos, $n=54$; 4 anos, $n=169$; 6 anos= 28 ; 8 anos, $n=119$) com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,30$; $p<0,0001$). Os pontos do gráfico estão sobrepostos, porque os valores de RGC são (2, 3 e 4).

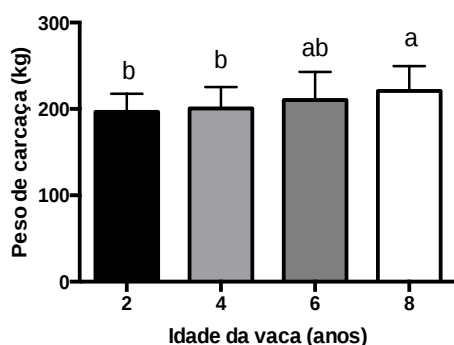


FIGURA 6- Média e desvio padrão do peso da carcaça de 372 vacas Nelore prenhes, abatidas com diferentes idades (anos) (2 anos, $n=54$; 4 anos, $n=169$; 6 anos= 28 ; 8 anos, $n=119$) ($p<0,0001$).

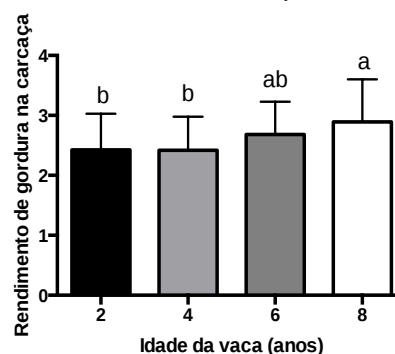


FIGURA 7- Média e desvio padrão do escore de revestimento de gordura na carcaça de 372 vacas Nelore prenhes, abatidas com diferentes idades (anos) (2 anos, $n=54$; 4 anos, $n=169$; 6 anos= 28 ; 8 anos, $n=119$) ($p<0,0001$).

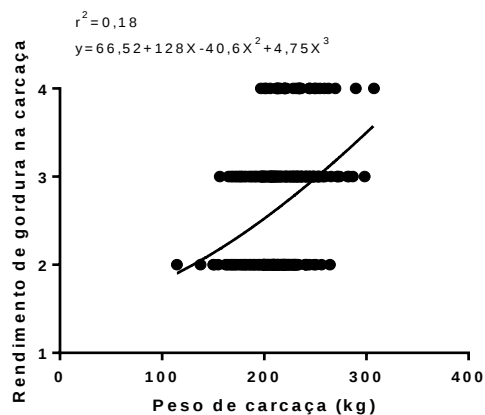


FIGURA 8- Correlação entre o peso de carcaça e o escore de revestimento de gordura na carcaça de 372 vacas prenhes da raça Nelore, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,37$; $p<0,0001$).

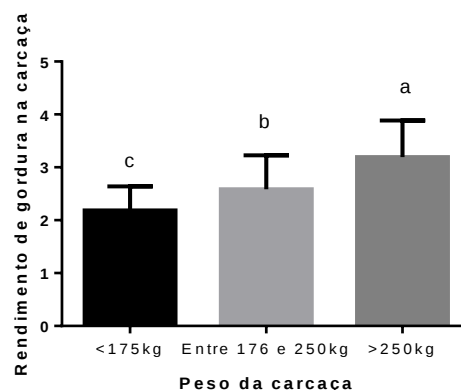


FIGURA 9- Média e desvio padrão do peso de carcaça (kg) de 372 vacas Nelore prenhes abatidas de acordo com o revestimento de gordura na carcaça (leve, $n=39$; 3, $n=306$; 4, $n=26$), ($p<0,0001$).

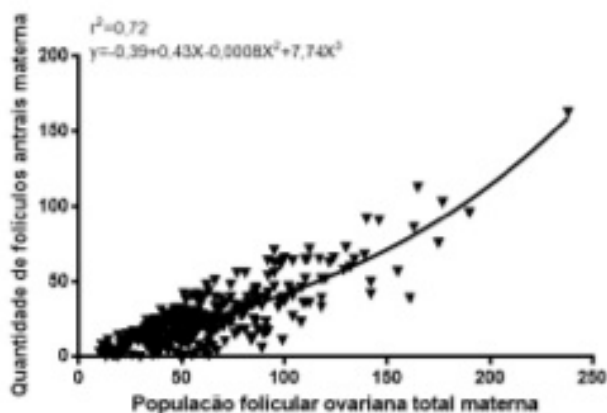


FIGURA 10- Correlação entre quantidade de folículos ovarianos totais e a quantidade de folículos ovarianos antrais de 372 vacas da raça Nelore prenhes com curva polinomial de segunda ordem ($r=0,75$; $p<0,0001$).

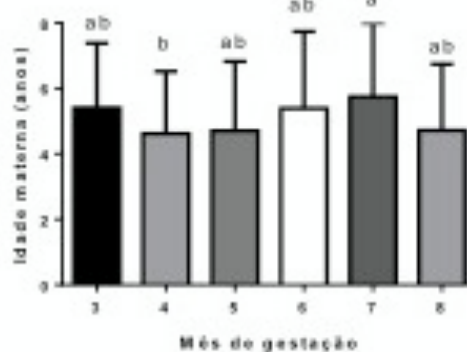


FIGURA 11- Média e desvio padrão da idade materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore durante os diferentes meses de gestação (3 meses, $n=40$; 4 meses, $n=68$; 5 meses, $n=57$; 6 meses, $n=90$; 7 meses, $n=77$; 8 meses, $n=39$) ($p=0,01$).

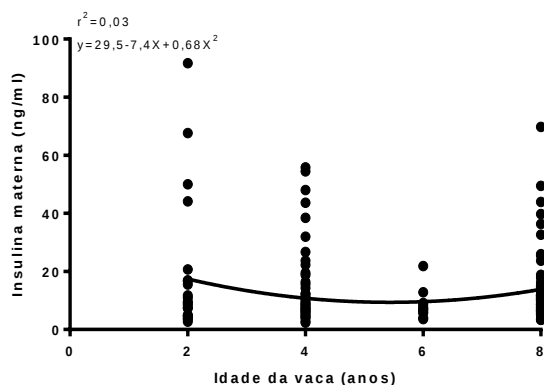


FIGURA 12- Correlação entre a idade das vacas e a concentração plasmática de insulina de 372 vacas da raça Nelore prenhes (2 anos, n=54; 4 anos, n=169; 6 anos=n=28; 8 anos, n=119) com curva polinomial de segunda ordem ($r=0,18$; $p=0,02$).

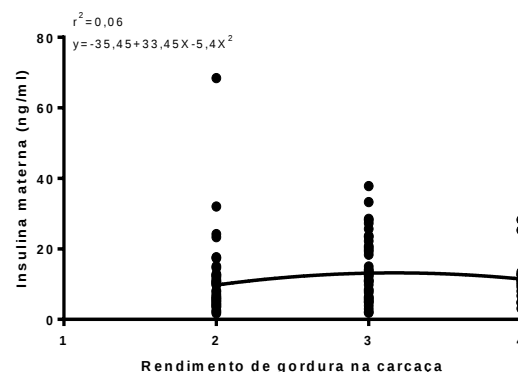


FIGURA 13- Correlação entre o escore de revestimento de gordura na carcaça e a concentração plasmática de insulina de 162 vacas da raça Nelore prenhes de fetos machos (2, n=178; 3, n=167; 4, n=29) com curva polinomial de segunda ordem ($r=0,23$; $p=0,006$).

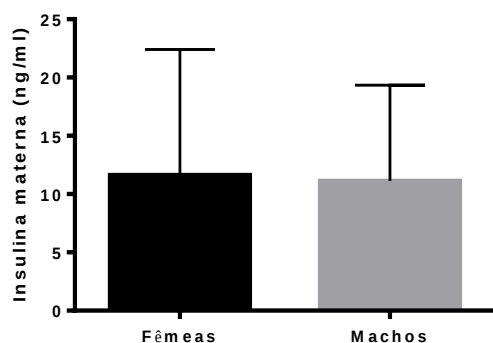


FIGURA 14- Média e desvio padrão da concentração plasmática de insulina materna de 209 vacas prenhes de fetos fêmeas e 162 vacas prenhes de fetos machos ($p=0,59$).

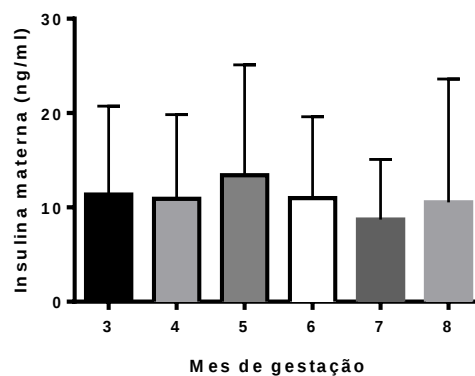


FIGURA 15- Média e desvio padrão da concentração plasmática de insulina materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore, durante os diferentes meses de gestação (3 meses, n=40; 4 meses, n=68; 5 meses, n=57; 6 meses, n=90; 7 meses, n=77; 8 meses, n=39) ($p=0,20$).

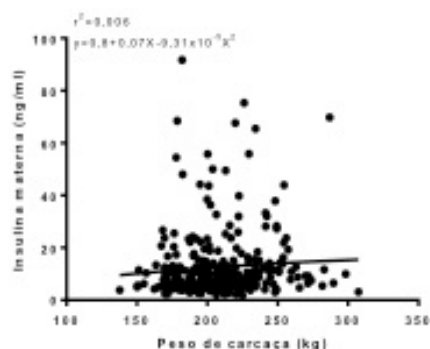


FIGURA 16- Correlação entre o peso de carcaça e a concentração plasmática de insulina de 372 vacas da raça Nelore prenhes com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,11$; $p=0,04$).

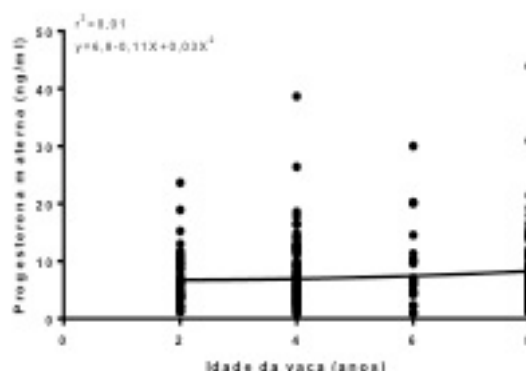


FIGURA 17- Correlação entre a idade materna e a concentração plasmática de progesterona de 372 vacas da raça Nelore prenhes (2 anos, $n=54$; 4 anos, $n=169$; 6 anos= 28 ; 8 anos, $n=119$) com curva polinomial de segunda ordem ($r=0,12$; $p=0,03$).

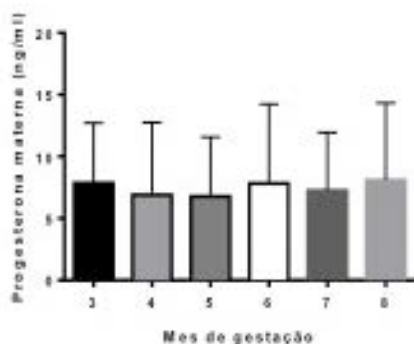


FIGURA 18- Média e desvio padrão da concentração plasmática de progesterona materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore durante os diferentes meses de gestação (3 meses, $n=40$; 4 meses, $n=68$; 5 meses, $n=57$; 6 meses, $n=90$; 7 meses, $n=77$; 8 meses, $n=39$) ($p=0,80$).

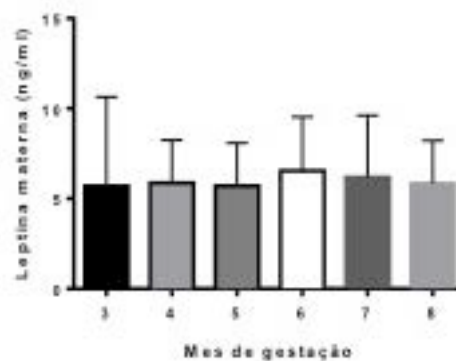


FIGURA 19- Média e desvio padrão da concentração plasmática de leptina materna de 372 vacas prenhes da raça Nelore durante os diferentes meses de gestação (3 meses, $n=40$; 4 meses, $n=68$; 5 meses, $n=57$; 6 meses, $n=90$; 7 meses, $n=77$; 8 meses, $n=39$), ($p=0,61$).

Tabela 3- Correlação entre as diferentes variáveis maternas, de 368 vacas prenhes (210 de fetos fêmeas e 168 de fetos machos), com período gestacional entre três e oito meses

VARIÁVEIS MATERNAS	VARIÁVEIS MATERNAS							
	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)
PESO CARCACA								
<i>r valor</i>		0,29	0,36	0,12	-0,13	0,16	0,03	-0,02
<i>p valor</i>		<.0001	<.0001	0,13	0,10	0,03	0,67	0,80
N		368	368	368	368	368	368	368
IDADE								
<i>r valor</i>	0,29		0,24	-0,02	0,02	Fêm:0,18 Mac:-0,02	0,15	-0,08
<i>p valor</i>	<.0001		0,00	0,80	0,82	Fêm:0,02 Mac:0,76	0,04	0,25
N	368		368	368	368	Fêm:210 Mac:168	368	368
RGC								
<i>r valor</i>	0,36	0,24		0,01	-0,02	Fêm:0,11 Mac: 0,23	0,03	-0,02
<i>p valor</i>	<.0001	0,00		0,94	0,80	Fêm:0,14 Mac: 0,006	0,66	0,77
N	368	368		368	368	Fêm:210 Mac:168	368	368
FOLÍCULOS TOTAIS								
<i>r valor</i>	0,12	-0,02	0,01		0,75	0,04	-0,09	-0,03
<i>p valor</i>	0,13	0,80	0,94		<.0001	0,65	0,31	0,68
N	368	368	368		368	368	368	368
FOLÍCULOS ANTRAIS								
<i>r valor</i>	-0,13	0,02	-0,02	0,75		0,09	0,01	0,03
<i>p valor</i>	0,10	0,82	0,80	<.0001		0,30	0,91	0,66
N	368	368	368	368		368	368	368
INSULINA								
<i>r valor</i>	0,16	Fêm:0,18 Mac:-0,02	Fêm:0,11 Mac: 0,23	0,04	0,09		0,03	0,06
<i>p valor</i>	0,03	Fêm:0,02 Mac:0,76	Fêm:0,14 Mac: 0,006	0,65	0,30		0,71	0,39
N	368	Fêm:210 Mac:168	Fêm:210 Mac:168	368	368		368	368
PROGESTERONA								
<i>r valor</i>	0,03	0,15	0,03	-0,09	0,01	0,03		-0,01
<i>p valor</i>	0,67	0,04	0,66	0,31	0,91	0,71		0,88
N	368	368	368	368	368	368		368
LEPTINA								
<i>r valor</i>	-0,02	-0,08	-0,02	-0,03	0,03	0,06	-0,01	
<i>p valor</i>	0,80	0,25	0,77	0,68	0,66	0,39	0,88	
N	368	368	368	368	368	368	368	

4.2 Durante toda a gestação

4.2.1 Fêmeas

O peso e o volume total dos ovários fetais foram correlacionados positivamente com a quantidade de folículos no ovário do feto ($r=0,78$; $p<0,0001$ e $r=0,80$; $p<0,0001$ respectivamente) durante toda a gestação (Figura 20).

A quantidade de folículos totais, primordiais, em crescimento e terciários por mês de gestação está apresentado na Figura 21. A partir do sexto mês gestacional foi observada a presença de folículos terciários, e quando consideramos os animais com seis, sete e oito meses de gestação sem folículos terciários, o número de folículos ovarianos totais foi correlacionado positivamente com o peso e volume ovariano ($r=0,50$; $p=0,0002$ e $r=0,60$; $p<0,0001$ respectivamente), porém quando analisamos os animais com os folículos antrais a correlação é menor ($r=0,32$; $p=0,01$ e $r=0,36$; $p=0,0035$ respectivamente). Por outro lado, a quantidade de folículos terciários foi correlacionada positivamente com peso e volume ovariano fetal ($r=0,75$, $p<0,0001$ e $r=0,82$ e $p<0,0001$) (Figura 22) destes animais.

A quantidade folicular ovariana total das vacas e a concentração plasmática de insulina materna foram correlacionadas negativamente com o número de folículos ovarianos fetal ($r=-0,31$; $p<0,0001$ e $r=-0,18$; $p=0,01$ respectivamente) (Figura 23 e 24). Do mesmo modo, a quantidade de folículos primordiais e em crescimento (primários e secundários) também foi correlacionada negativamente com estas variáveis maternas (Tabela 4).

Foi observado o aparecimento dos folículos primordiais aos 77 dias, primários aos 88 dias, secundários aos 106 dias e antrais aos 160 dias de gestação em fetos fêmeas *Bos taurus indicus* da raça Nelore.

A média da população de folículos primordiais durante a gestação, em fetos de *Bos taurus indicus*, foi estimada em 179.787, tendo variado de 165 a 2.071.667 de folículos, valores próximos ao descrito anteriormente (RUSSE, 1983). A estimativa média do número de folículos no ovário dos fetos aos oito meses de gestação foi de 642.029 ± 529.903 .

Nos fetos fêmeas com idade inferior a seis meses de gestação, estima-se que a média da população folicular ovariana total seja de 64.437, com variação individual entre 165 e 527.386 folículos, sendo 45.965 ± 54.601 folículos primordiais, 19.117 ± 25.324 folículos primários e 1.481 ± 1.512 folículos secundários. Já nos fetos com idade gestacional maior ou igual aos seis meses, já podem possuir folículos antrais nos ovários, com presença de todas as camadas celulares. Neste trabalho, foi estimada uma população folicular ovariana total de 430.695 estruturas foliculares, com variação individual entre 19.680 e 2.838.127 de folículos. Foram encontrados aproximadamente 281.026 ± 347.129 folículos primordiais, 135.630 ± 142.584 folículos primários, 15.222 ± 22.809 folículos secundários e 127 ± 226 folículos antrais (variação individual de 6 a 1.398 folículos) no sexto mês de gestação.

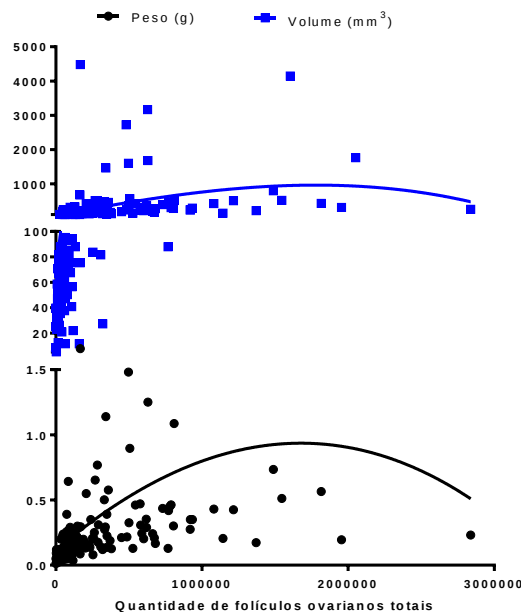


FIGURA 20- Correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano ($r=0,78$; $p<0,0001$) de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,09$; $y=0,12+9,5\times10^{-7}X-2,6\times10^{-13}X^2-8,5\times10^{-21}X^3$) e correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,80$; $p<0,0001$) de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,16$; $y=72,3+0,0008X-9\times10^{-11}X^2-5,4\times10^{-17}X^3$).

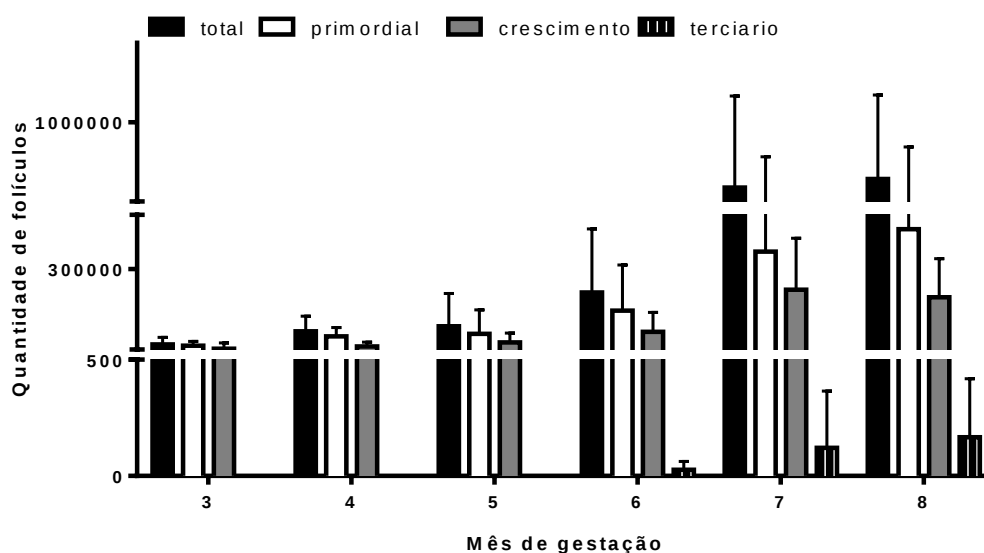


FIGURA 21- Quantidade de total de folículos, dos folículos primordiais, folículos em crescimento e folículos terciários de acordo com o mês de gestação em 210 fetos fêmeas da raça Nelore.

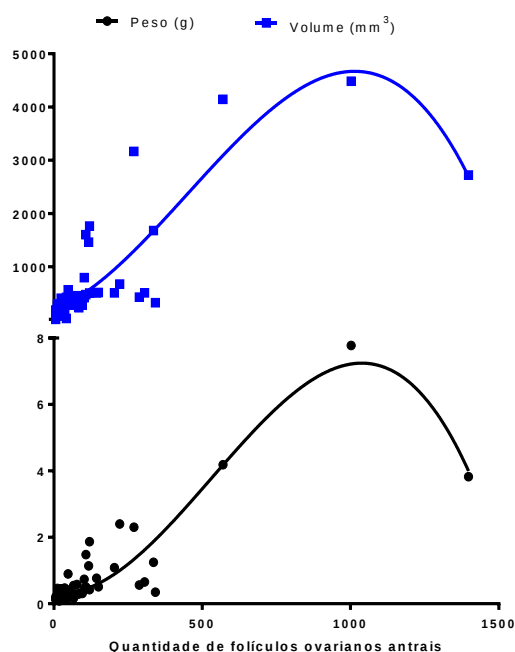


FIGURA 22- Correlação entre a quantidade de folículos antrais no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,75$; $p<0,0001$) de 112 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,86$; $y=0,33-0,001X+2,1\times10^{-5}X^2-1,3\times10^{-8}X^3$) e correlação entre a quantidade de folículos antrais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,82$; $p<0,0001$) de 112 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,74$; $y=190+2,2X+0,009X^2-6,4\times10^{-6}X^3$).

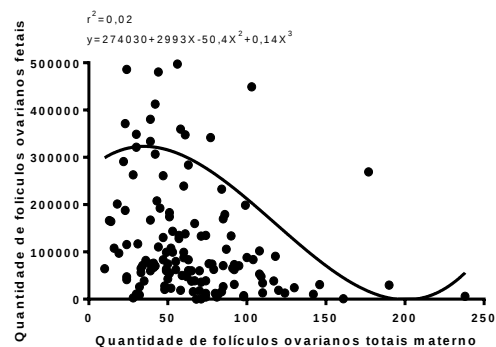


FIGURA 23- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais materna e a quantidade de folículos no ovário de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,31$; $p<0,0001$).

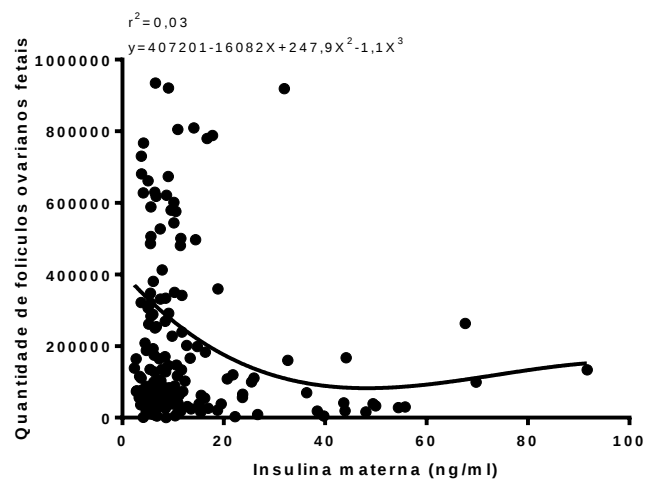


FIGURA 24- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a população folicular ovariana fetal de 210 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,18$; $p=0,01$).

Tabela 4- Correlações entre os diferentes tipos de folículos presentes nos ovários fetais com as diferentes variáveis maternas, com o peso e volume fetal, de 210 fetos bovinos, com idade gestacional de três a oito meses

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	VARIÁVEIS MATERNAS						VARIÁVEIS FETAIS			
	PESO DE CARCAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm3)
PRIMORDIAL										
r valor	-0,09	0,07	0,06	0,13	-0,25	-0,18	0,03	0,13	0,72	0,74
p valor	0,22	0,34	0,39	0,10	0,001	0,02	0,68	0,07	<0,0001	<0,0001
N	202	202	201	166	165	174	168	192	200	200
PRIMARIO										
r valor	-0,05	0,14	0,06	-0,01	-0,24	-0,17	0,05	-0,01	0,75	0,75
p valor	0,50	0,05	0,43	0,94	0,003	0,03	0,54	0,92	<0,0001	<0,0001
N	187	187	186	151	150	161	155	177	185	185
SECUNDARIO										
r valor	-0,08	0,01	0,11	-0,03	-0,14	-0,24	0,04	-0,06	0,62	0,70
p valor	0,33	0,91	0,21	0,75	0,17	0,01	0,65	0,49	<0,0001	<0,0001
N	132	132	132	106	105	115	111	125	131	131
CRESCIMENTO										
r valor	-0,07	0,12	0,05	0,00	-0,26	-0,18	0,04	-0,02	0,76	0,77
p valor	0,36	0,09	0,47	0,96	0,001	0,02	0,59	0,75	<0,0001	<0,0001
N	187	187	186	151	150	161	155	177	185	185
TERCEARIO										
r valor	-0,12	-0,11	-0,01	0,05	0,05	0,05	-0,05	0,13	0,75	0,82
p valor	0,36	0,41	0,91	0,73	0,73	0,73	0,69	0,32	<0,0001	<0,0001
N	61	61	61	50	49	54	56	56	61	61
CG										
r valor	0,19	-0,14	0,02	-0,09	0,17	-0,22	0,19	-0,10	0,06	0,38
p valor	0,11	0,25	0,89	0,50	0,17	0,09	0,16	0,42	0,62	0,00
N	68	68	67	62	62	57	58	66	66	66
TOTAL										
r valor	-0,10	0,08	0,05	0,14	-0,31	-0,18	0,04	0,11	0,78	0,80
p valor	0,17	0,26	0,48	0,07	<0,0001	0,02	0,64	0,15	<0,0001	<0,0001
N	203	203	202	166	165	175	169	193	201	201

4.2.2 Machos

Foi observada correlação positiva entre o peso e volume dos testículos fetais com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,84$; $p<0,0001$ e $r=0,92$; $p<0,0001$) (Figura 25), com o número das células de Leydig ($r=0,80$; $p<0,0001$ e $r=0,90$; $p<0,0001$) (Figura 26) e com a quantidade de células germinativas ($r=0,84$; $p<0,0001$ e $r=0,93$; $p<0,0001$) (Figura 27).

A concentração plasmática de testosterona foi correlacionada negativamente com o peso e volume testicular ($r=-0,31$; $p=0,0001$ e $r=-0,22$; $p=0,006$) (Figura 28) e com o número de células de Sertoli ($r=-0,23$ e $p=0,005$) (Figura 29), de Leydig ($r=-0,19$ e $p=0,02$) (Figura 30) e germinativas ($r=-0,25$ e $p=0,005$) (Figura 31). No quinto mês gestacional a média da concentração plasmática de testosterona dos fetos foi a maior ($0,67\pm0,3$ ng/mL) ($p=0,007$) que no sétimo e oitavo mês ($0,45\pm0,16$ ng/mL e $0,44\pm0,15$ ng/mL respectivamente) (Figura 32).

Foi observada correlação positiva entre a idade materna e a quantidade de células germinativas nos testículos fetais ($r=0,11$ e $p=0,04$) (Figura 33). A quantidade de folículos ovarianos totais maternos apresentou correlação negativa com a quantidade de células de Sertoli ($r=-0,18$ e $p=0,03$) (Figura 34).

Houve correlação negativa entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Sertoli ($r=-0,24$ e $p=0,005$) (Figura 35), de Leydig ($r=-0,25$ e $p=0,004$) (Figura 36) e germinativas ($r=-0,25$ e $p=0,005$) (Figura 37). As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na

carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 5.

A média da quantidade de células de Sertoli não diferiu entre o terceiro e quarto mês gestacional, sendo a estimativa populacional de 2.575.149 células. A partir do quinto mês foi observado aumento entre os meses ($p < 0,0001$), de 13.649.199 no quinto passou para 33.118.196 no sexto, 58.924.506 no sétimo e 168.773.440 no oitavo mês de gestação.

A média da quantidade de células de Leydig variou a partir do o sexto mês de gestação ($p < 0,0001$). A estimativa do número de células de Leydig foi de 71.600.147 até o quinto mês, 246.902.775 no sexto, 364.517.929 no sétimo e 776.550.366 no oitavo.

Desde o terceiro mês gestacional foi observada a presença de pequena quantidade de células germinativas, visualizadas no interior dos túbulos seminíferos, como células grandes, com núcleo arredondado, e levemente corado, como descrito anteriormente por Jacomini et al. (2007). A estimativa da quantidade de células germinativas primordiais nos testículos fetais de bovinos até 5 meses de gestação foi de 7.362, aos seis meses 27.096, aos sete meses 32.693 e ao oitavo mês 63.550 gestacional. Até o quarto mês não foi observada variação na quantidade de células entre os meses, porém a partir do quinto mês, o número de células aumentou por mês ($p < 0,0001$).

Neste trabalho a maior concentração plasmática de testosterona dos fetos machos foi observada no quinto mês de gestação seguida por um

decréscimo no sétimo e oitavo mês. A concentração plasmática de testosterona foi correlacionada positivamente com a quantidade de células germinativas encontrada nos túbulos seminíferos dos testículos fetais no quinto e sexto mês gestacional e negativamente com o número de células de Sertoli e Leydig nos testículos quando analisado todo o período da gestação.

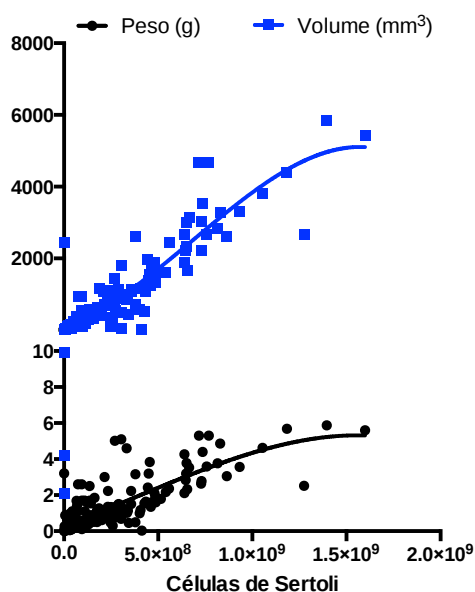


FIGURA 25- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli nos testículos fetais e o peso testicular fetal ($r=0,84$; $p<0,0001$) de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,7381$; $y=0,06+1,4\times10^{-10}X+1,7\times10^{-17}X^2+5,8\times10^{-26}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Sertoli nos testículos fetais e o volume testicular fetal ($r=0,92$; $p<0,0001$) de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,8888$; $y=30,38+7,5\times10^{-8}X+9\times10^{-15}X^2+3\times10^{-23}X^3$).

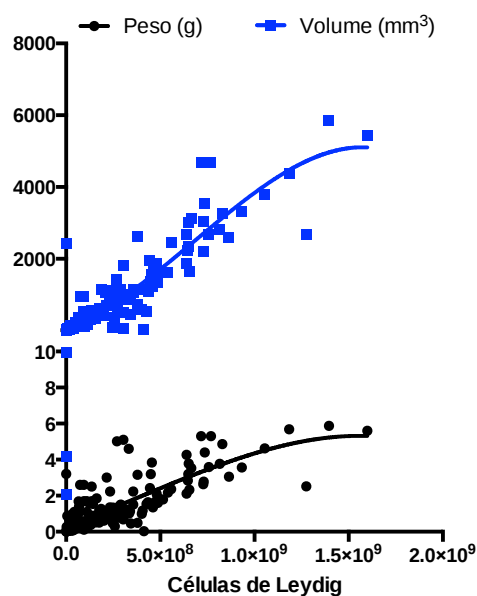


FIGURA 26- Correlação entre a quantidade de células de Leydig nos testículos fetais e o peso testicular fetal ($r=0,89$; $p<0,0001$) de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,6415$; $y=0,3+3,9\times10^{-9}X+1,3\times10^{-18}X^2-1,07\times10^{-27}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Leydig nos testículos fetais e o volume testicular fetal ($r=0,90$; $p<0,0001$) de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,8404$; $y=99,4+1,6\times10^{-6}X+3,8\times10^{-15}X^2-1,9\times10^{-24}X^3$).

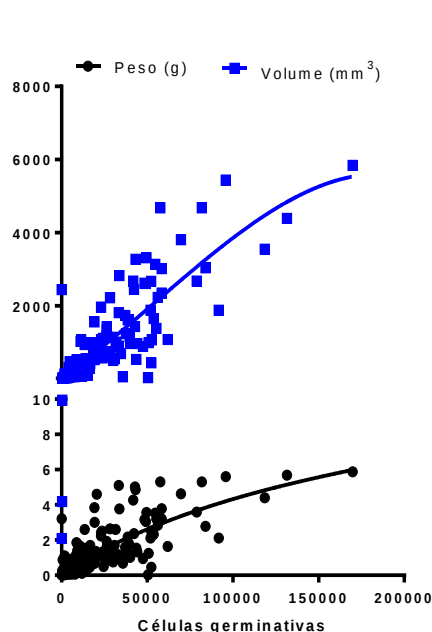


FIGURA 27- Correlação entre a quantidade de células de germinativas nos testículos fetais e o peso testicular fetal ($r=0,84$; $p<0,0001$) de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,5814$; $y=0,18+5,7\times10^{-5}X-1,9\times10^{-10}X^2+3,3\times10^{-16}X^3$) e correlação entre a quantidade de células germinativas nos testículos fetais e o volume testicular fetal ($r=0,93$; $p<0,0001$) de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,7192$; $y=16+0,03\times10^{-7}X+1,3\times10^{-7}X^2-7,9\times10^{-23}X^3$).

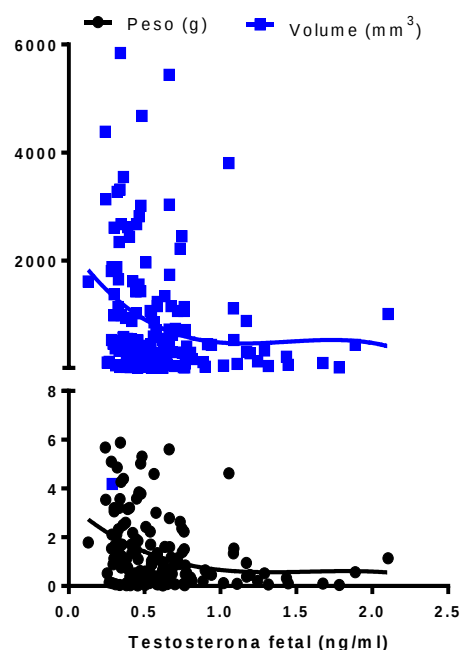


FIGURA 28- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e o peso testicular de 162 fetos ($r=-0,31$; $p=0,0001$) bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,11$; $y=3,4-5,6X+3,6X^2-0,76X^3$) e a concentração plasmática de testosterona fetal e o volume testicular de 162 fetos ($r=-0,22$; $p=0,0006$) bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de 3 a 8 meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,07$; $y=2304-4092X+2950X^2-681X^3$).

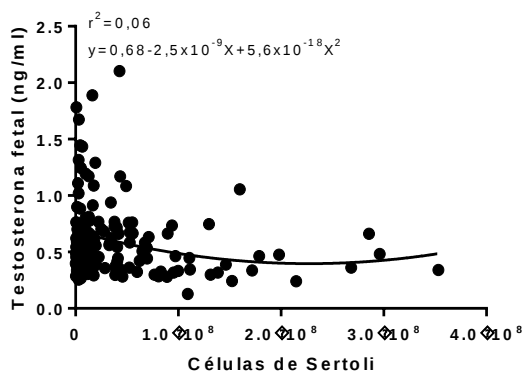


FIGURA 29- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células de Sertoli, de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,23$ e $p=0,005$).

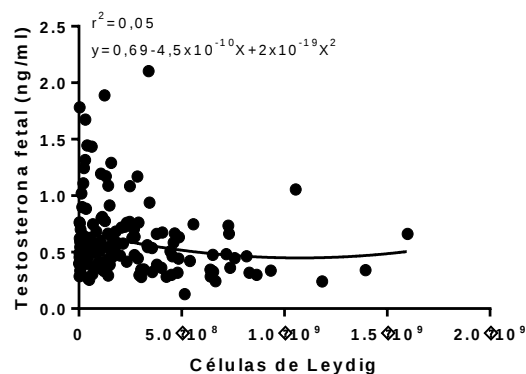


FIGURA 30- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células de Leydig, de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,19$ e $p=0,02$).

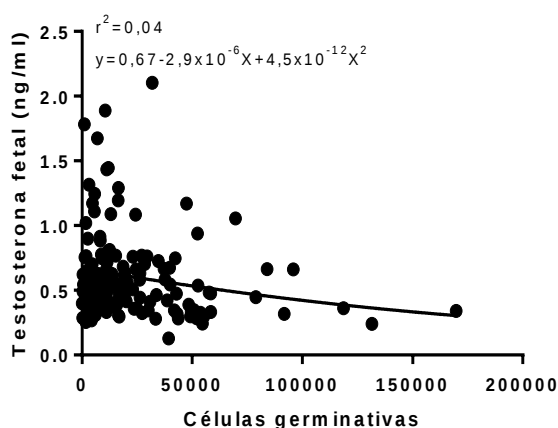


FIGURA 31- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas, de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,25$ e $p=0,005$).

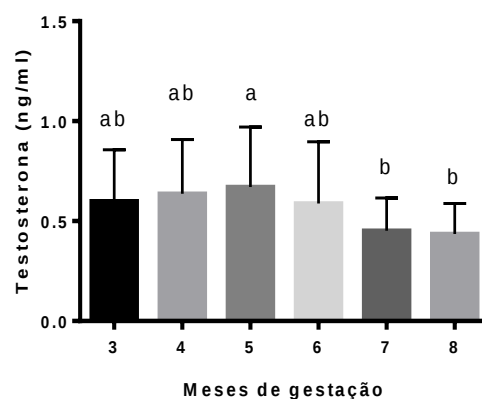


FIGURA 32- Média da concentração plasmática de testosterona de 162 fetos machos de acordo com o mês de gestação (3 meses, $n=16$; 4 meses, $n=22$; 5 meses, $n=33$; 6 meses, $n=39$; 7 meses, $n=32$; 8 meses, $n=20$) ($p=0,007$).

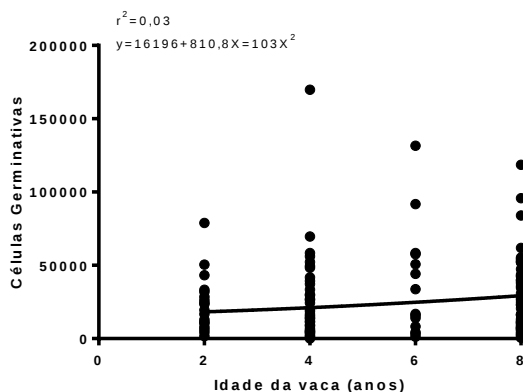


FIGURA 33- Correlação entre a idade materna e a quantidade de células germinativas de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem (2 anos, n=23; 4 anos, n=71; 6 anos, n=14; 8 anos, n=53) ($r=0,11$; $p=0,04$).

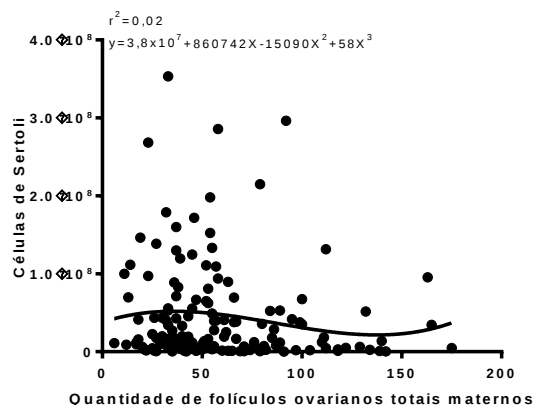


FIGURA 34- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais materna e a quantidade de células de Sertoli de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,18$ e $p=0,03$).

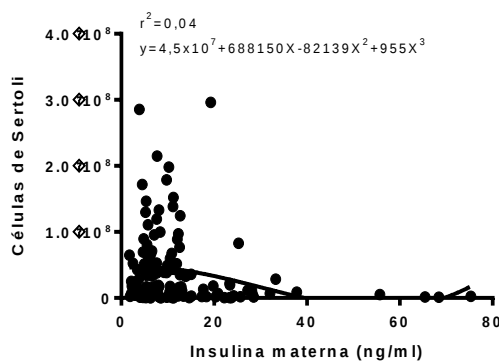


FIGURA 35- Correlação entre concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Sertoli de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,24$; $p=0,005$).

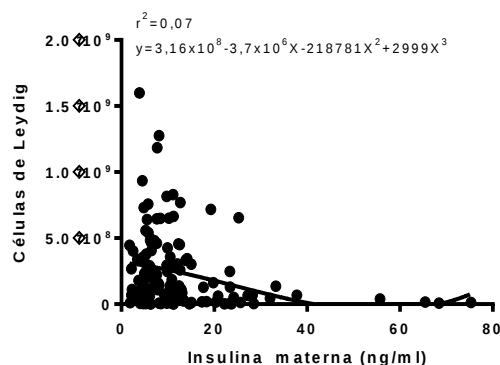


FIGURA 36- Correlação entre concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Leydig de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,25$ e $p=0,004$).

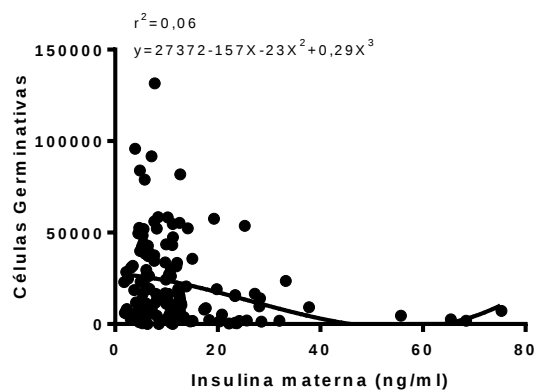


FIGURA 37- Correlação entre concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células germinativas de 162 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três a oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,25$ e $p=0,005$).

4.3 Terceiro mês gestacional

4.3.1 Fêmeas

Foram encontradas correlações entre o peso e volume ovarianos fetais com o número de folículos presentes nos ovários ($r=0,74$; $p=0,0004$ e $r=0,75$; $p=0,0003$ respectivamente) (Figura 38). A concentração plasmática de leptina e insulina materna foi correlacionada positivamente com a quantidade de folículos totais fetal ($r=0,65$; $p=0,005$ e $r=0,61$; $p=0,01$ respectivamente) (Figura 39 e 40). A correlação entre os diferentes tipos foliculares e as variáveis maternas estão representadas na tabela 6. A média da quantidade dos folículos ovarianos dos fetos de acordo com a PFOA, PC, RGC (Tabela 7) e idade maternos está apresentada na Tabela 8, porém foi observada uma possível influência da população de células germinativas de acordo com o RGC materno ($p=0,06$).

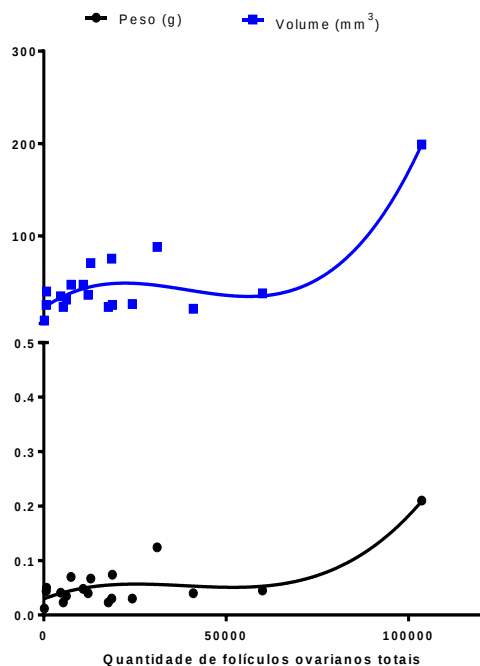


FIGURA 38- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,74$ e $p=0,0004$) de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,728$; $y=0,03+2,6 \times 10^{-6}X-7,5 \times 10^{-11}X^2+6,5 \times 10^{-16}X^3$) e correlação entre a de folículos totais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,75$; $p=0,0003$) de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,8111$; $y=22+0,003X-8,7 \times 10^{-8}X^2+7,4 \times 10^{-13}X^3$).

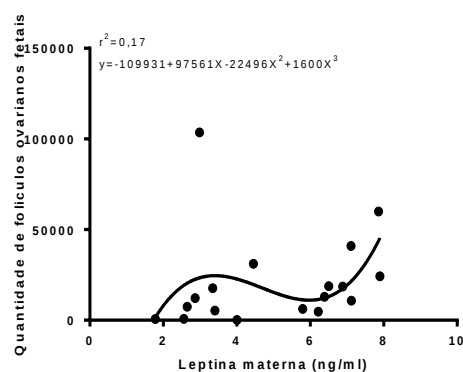


FIGURA 39- Correlação entre a concentração de leptina plasmática materna e a população folicular ovariana fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,65$; $p=0,005$).

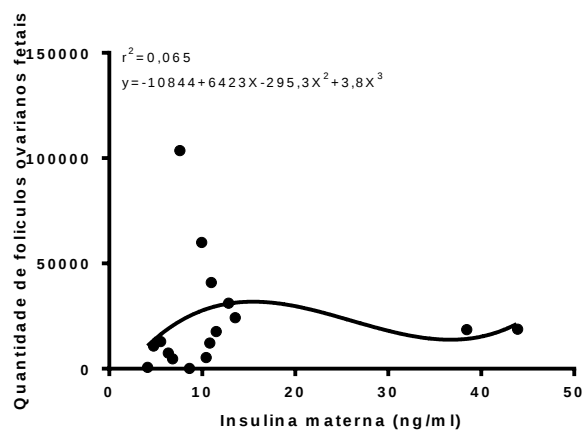


FIGURA 40- Correlação entre a concentração de insulina plasmática materna e a população folicular ovariana fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,61$; $p=0,01$).

Tabela 6- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com três meses de gestação

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	VARIÁVEIS MATERNAS						VARIÁVEIS FETAIS			
	PESO DE CARCAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm ³)
PRIMORDIAL										
r valor	0,07	0,13	0,01	-0,13	-0,12	0,50	0,00	0,65	0,22	0,18
p valor	0,78	0,61	0,96	0,64	0,65	0,04	0,99	0,01	0,39	0,50
N	17	17	17	16	16	15	15	17	17	17
PRIMÁRIO										
r valor	0,80	0,00	0,26	-0,50	.	0,40	-0,60	-0,40	0,97	0,96
p valor	0,20	1,00	0,74	0,67	.	0,60	0,40	0,60	0,03	0,04
N	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4
CRESCIMENTO										
r valor	0,80	0,00	0,26	.	-0,50	0,40	-0,60	-0,40	0,97	0,96
p valor	0,20	1,00	0,74	.	0,67	0,60	0,40	0,60	0,03	0,04
N	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4
CÉLULAS GERMINATIVAS										
r valor	0,05	-0,33	0,12	-0,24	0,27	-0,07	0,02	0,11	-0,12	0,40
p valor	0,84	0,13	0,61	0,30	0,23	0,78	0,95	0,63	0,61	0,08
N	22	22	22	21	21	19	19	21	21	21
TOTAL DE FOLÍCULOS										
r valor	0,14	0,05	0,09	-0,16	-0,07	0,61	-0,16	0,65	0,74	0,75
p valor	0,57	0,84	0,73	0,56	0,79	0,02	0,56	0,005	0,0004	0,0003
N	18	18	18	16	16	16	16	18	18	18

Tabela 7- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore de três meses gestacionais, de acordo com a quantidade de folículos antrais, o peso de carcaça e o revestimento de gordura na carcaça maternos

TERCEIRO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS							
	POPULAÇÃO DE FOLÍCULOS OVARIANOS ANTRAIS MATERNOS							
	N		ALTA		N		INTERMEDIÁRIA	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Fol. Totais	12	15159 b ±	15670	4	12402 b ±	14887	2	72277 a ±
<i>p=0,0036</i>								
Fol. Primordiais	12	14911 ±	15614	4	12402 ±	14887	1	40959 ±
<i>p=0,78</i>								
Células Germinativas	13	25724 ±	13347	6	19337 ±	17561	3	20320 ±
<i>p=0,63</i>								
	RENDIMENTO DE GORDURA NA CARÇAÇA							
	N		1 - 2mm		N		3 - 6 mm	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Fol. Totais	6	13782 ±	9883	9	25937 ±	34340	3	19982 ±
<i>p=0,69</i>								
Fol. Primordiais	6	13782 ±	9883	9	16061 ±	19429	3	19441 ±
<i>p=0,89</i>								
Células Germinativas	7	17020 ±	12614	12	29393 ±	13611	3	13180 ±
<i>p=0,07</i>								
	PESO DE CARÇAÇA							
	N		LEVE		N		INTERMEDIÁRIO	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Fol. Totais	1	17701 ±	...	15	18640 ±	26288	2	39386 ±
<i>p=0,31</i>								
Fol. Primordiais	1	17701 b ±	...	15	12475 ±	12171 b	2	38574 a ±
<i>p=0,03</i>								
Células Germinativas	1	20997 ±	...	19	23087 ±	14070	2	25874 ±
<i>p=0,80</i>								

Tabela 8- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore de três meses gestacionais de acordo com a idade materna

TERCEIRO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS							
	IDADE							
	N		2 anos		N		4 anos	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Fol. Totais	1	6187 ±	...	7	23740 ±	35638	1	31086 ±
<i>p=0,75</i>								
Fol. Primordiais	1	6187 ±	...	6	10326 ±	5965	1	31086 ±
<i>p=0,33</i>								
Células Germinativas	2	21233 ±	19991	#	30486 ±	14545	1	31086 ±
<i>p=0,12</i>								

4.3.2 Machos

Foi observada correlação positiva entre o peso e volume dos testículos fetais com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,85$; $p=0,0008$ e $r=0,93$; $p<0,0001$) (Figura 41) e com o número das células de Leydig ($r=0,68$; $p=0,004$ e $r=0,96$; $p<0,0001$) (Figura 42). O volume total do testículo foi correlacionado positivamente com a quantidade de células germinativas ($r=0,53$; $p=0,04$ e $r=0,76$; $p=0,0009$) (Figura 43).

As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 9.

A média da quantidade das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o número de folículos antrais nos ovários das vacas, o peso de carcaça, o revestimento de gordura na carcaça e a idade materna estão nas tabelas 10 e 11.

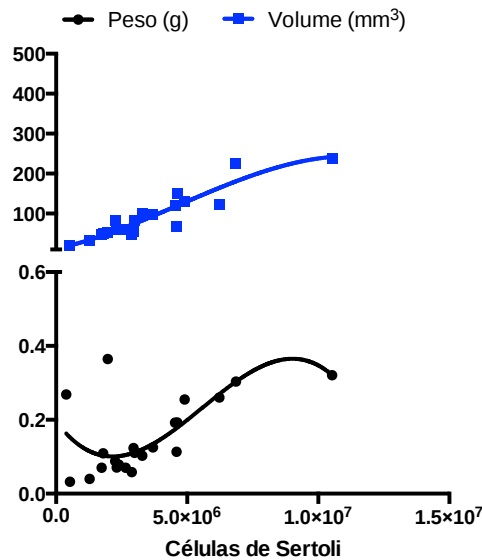


FIGURA 41- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli e o peso testicular fetal ($r=0,85$ e $p=0,0008$) de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,45$; $y=0,2-9,6 \times 10^{-8}X+2,5 \times 10^{-14}X^2-1,6 \times 10^{-21}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Sertoli e o volume testicular fetal ($r=0,87$; $p<0,0001$) de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,87$; $y=12,22+1,4 \times 10^{-5}X+3,1 \times 10^{-12}X^2-2,2 \times 10^{-19}X^3$).

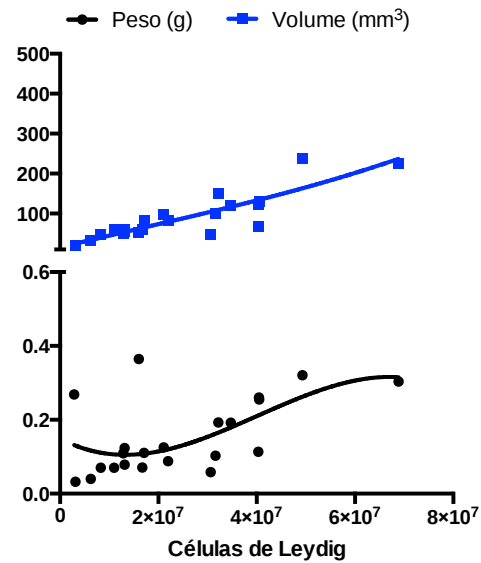


FIGURA 42- Correlação entre a quantidade de células de Leydig e o peso ovariano fetal ($r=0,68$ e $p=0,004$) de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,34$; $y=0,14-7 \times 10^{-9}X+3,3 \times 10^{-16}X^2-2,7 \times 10^{-24}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Leydig e o volume testicular fetal ($r=0,96$; $p<0,0001$) de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,77$; $y=15,3+3 \times 10^{-6}X-8,9 \times 10^{-15}X^2+1,7 \times 10^{-22}X^3$).

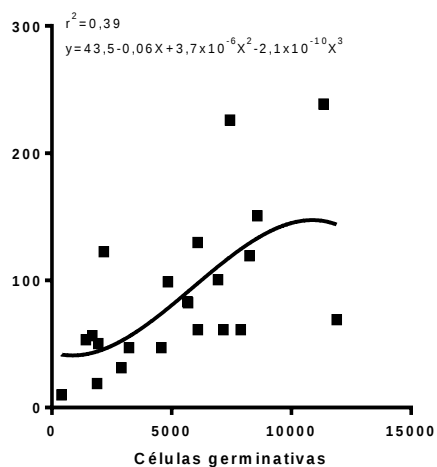


FIGURA 43- Correlação entre a quantidade de células de germinativas e o volume testicular fetal ($r=0,39$; $p=0,0009$) de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de três meses, com curva polinomial de terceira.

Tabela 9- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 16 fetos bovinos da raça Nelore, com três meses de gestação

TIPO DE CÉLULA TESTICULAR	VARIÁVEIS MATERNAS					VARIÁVEIS FETAIS					
	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULO S ANTRAIS	FOLÍCULO S OVARIANO S TOTAIS	PROGES TERONA (ng/ml)	INSULINA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	TESTOS TERONA (ng/ml)	PESO TESTICULAR (g)	VOLUME TESTICULAR (mm3)
CÉLULAS DE SERTOLI											
<i>r valor</i>	0,11	0,08	0,24	-0,30	-0,31	-0,39	0,04	-0,14	0,46	0,53	0,92
<i>p valor</i>	0,62	0,77	0,36	0,28	0,26	0,16	0,90	0,63	0,10	0,007	<0,0001
<i>N</i>	16	16	16	15	15	15	14	15	14	16	16
CÉLULAS DE LEYDIG											
<i>r valor</i>	-0,01	0,31	0,38	-0,17	-0,19	-0,28	-0,02	-0,20	0,25	0,55	0,89
<i>p valor</i>	0,96	0,25	0,15	0,54	0,51	0,31	0,93	0,47	0,39	0,009	<0,0001
<i>N</i>	16	16	16	15	15	15	14	15	14	16	16
CÉLULAS GERMINATIVAS											
<i>r valor</i>	0,46	0,13	0,06	-0,35	-0,38	-0,09	-0,01	0,15	0,24	0,10	0,69
<i>p valor</i>	0,08	0,63	0,83	0,20	0,17	0,76	0,97	0,60	0,41	0,67	0,0004
<i>N</i>	15	15	15	15	15	14	13	14	14	15	15

4.4 Quarto mês gestacional

4.4.1 Fêmeas

O peso e volume ovarianos fetais foram correlacionados com o número de folículos ovarianos totais ($r=0,32$; $p=0,03$ e $r=0,51$; $p=0,0002$ respectivamente) (Figura 44). Já a quantidade de células germinativas foi correlacionada positivamente com o volume do ovário fetal ($r=0,71$ e $p<0,0001$) (Figura 45). A concentração de plasmática progesterona foi correlacionada positivamente com a quantidade de folículos primordiais dos fetos ($r=0,36$; $p=0,03$) (Figura 46). Foi observada correlação negativa entre a PFOA materna e o número de folículos ovarianos totais fetal ($r=-0,39$ e $p=0,01$) (Figura 47) e com o número de folículos primordiais ($r=-0,38$; $p=0,02$). O número de folículos primários apresentou uma tendência a ser correlacionado com o PC materno ($r=0,28$ e $p=0,06$).

A correlação entre os diferentes tipos foliculares e as variáveis maternas estão representadas na Tabela 12. A média da quantidade dos folículos ovarianos dos fetos de acordo com a PFOA, PC, RGC e idade maternos estão apresentadas nas tabelas 13 e 14.

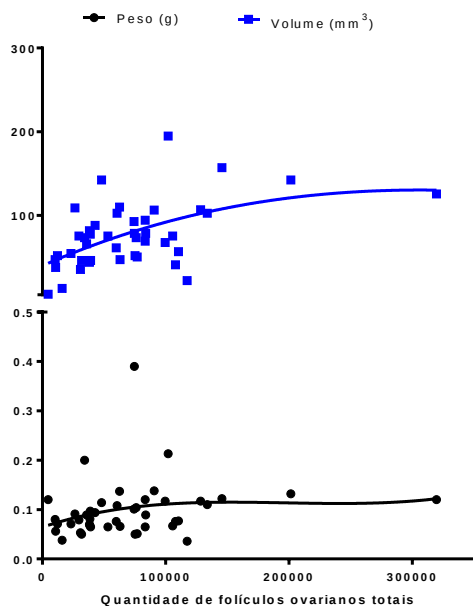


FIGURA 44- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,32$; $p=0,03$) de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,06$; $y=0,06+8,4\times 10^{-7}X-4,5\times 10^{-12}X^2+7,5\times 10^{-18}X^3$) e correlação entre a de folículos primordiais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,51$; $p=0,0002$) de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,2846$; $y=39,8+0,0006X-1,3\times 10^{-9}X^2+6,04\times 10^{-16}X^3$).

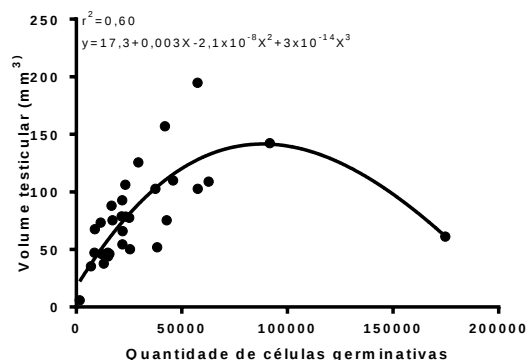


FIGURA 45- Correlação entre a quantidade de células germinativas no ovário fetal e o volume dos ovários fetais de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,71$; $p<0,0001$).

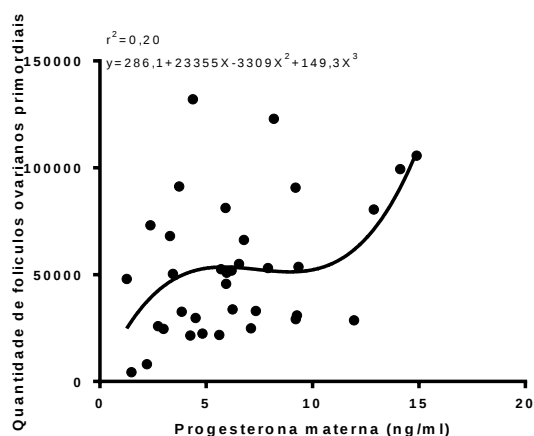


FIGURA 46- Correlação entre a concentração plasmática de progesterona materna e a quantidade de folículos ovarianos primordiais de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,36$; $p=0,03$).

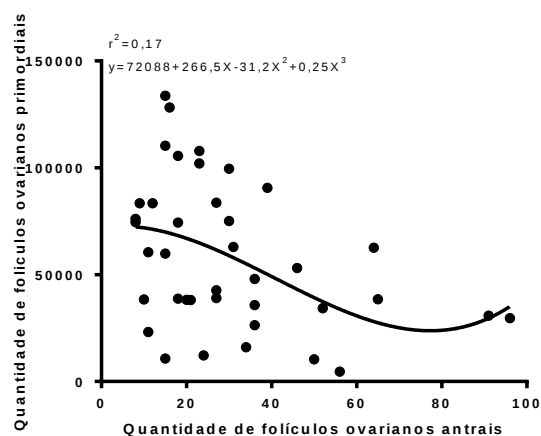


FIGURA 47- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos antrais materna e a quantidade de folículos ovarianos primordiais de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,39$; $p=0,01$).

Tabela 12- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com quatro meses de gestação

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	VARIÁVEIS MATERNAS				VARIÁVEIS FETAIS			
				FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm ³)	
PRIMORDIAL											
r valor	0,08	0,02	0,13	-0,38	-0,25	-0,13	0,36	0,10	0,21	0,42	
p valor	0,59	0,90	0,41	0,02	0,12	0,45	0,03	0,51	0,17	0,004	
N	46	46	45	40	40	37	36	44	45	45	
PRIMARIO											
r valor	0,28	0,15	0,04	0,23	-0,19	0,27	0,18	0,07	0,40	0,43	
p valor	0,06	0,33	0,78	0,17	0,25	0,12	0,32	0,64	0,01	0,004	
N	44	44	43	38	38	35	34	42	43	43	
SECUNDARIO											
r valor	-0,10	0,40	0,24	-0,25	0,30	0,36	0,00	-0,02	0,35	0,40	
p valor	0,79	0,25	0,50	0,51	0,44	0,39	1,00	0,97	0,33	0,25	
N	10	10	10	9	9	8	7	9	10	10	
CRESCIMENTO											
r valor	0,20	0,13	-0,02	0,23	-0,19	0,19	0,17	-0,03	0,4709	0,5173	
p valor	0,20	0,39	0,90	0,17	0,25	0,28	0,35	0,85	0,001	0,0004	
N	44	44	43	38	38	35	34	42	43	43	
CÉLULAS GERMINATIVAS											
r valor	0,17	-0,20	-0,02	0,22	-0,12	-0,20	0,24	-0,07	0,28	0,72	
p valor	0,34	0,26	0,93	0,27	0,54	0,31	0,22	0,69	0,12	<0,0001	
N	33	33	32	28	28	27	28	32	32	32	
TOTAL DE FOLÍCULOS											
r valor	0,07	0,02	0,07	-0,39	-0,28	-0,08	0,27	0,08	0,32	0,47	
p valor	0,65	0,88	0,65	0,01	0,09	0,63	0,11	0,63	0,03	0,00	
N	46	46	45	40	40	37	36	44	45	45	

Tabela 13- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas

QUARTO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS											
	POPULAÇÃO DE FOLÍCULOS OVARIANOS ANTRAIS MATERNOS											
	N	ALTA			N	INTERMEDIÁRIA			N	BAIXA		
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais <i>p=0,03</i>	14	38829 b	±	23121	14	70382 a	±	35391	14	79623 a	±	51491
Fol. Primordiais <i>p=0,04</i>	14	29396 b	±	15561	14	56155 a	±	29695	14	58741 a	±	35471
Fol. em Crescimento <i>p=0,18</i>	14	10890	±	13791	14	14194	±	8905	14	20841	±	22529
Células Germinativas <i>p=0,21</i>	14	28643	±	27075	14	23933	±	14190	14	54351	±	61073
RENDIMENTO DE GORDURA NA CARÇAÇA												
	N	1 - 2mm			N	3 - 6 mm			N	7 - 10mm		
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais <i>p=0,78</i>	24	69215	±	67350	20	66818	±	40430	2	96745	±	69012
Fol. Primordiais <i>p=0,13</i>	24	43811	±	26480	20	53535	±	35646	2	89990	±	59458
Fol. em Crescimento <i>p=0,71</i>	24	14974	±	18456	20	13200	±	10888	1	13511	±	...
Células Germinativas <i>p=0,24</i>	24	32094	±	37156	20	25249	±	18392	2	66826	±	35121
PESO DE CARÇAÇA												
	N	LEVE			N	INTERMEDIÁRIO			N	PESADO		
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais <i>p=0,70</i>	3	46779	±	25943	40	69823	±	58671	3	85916	±	43701
Fol. Primordiais <i>p=0,45</i>	3	30418	±	9244	40	50447	±	33733	3	64339	±	30391
Fol. em Crescimento <i>p=0,21</i>	3	16295	±	16628	40	13033	±	14951	3	32365	±	2705
Células Germinativas <i>p=0,14</i>	3	19265	±	3589	40	29610	±	31658	3	74601	±	24126

Tabela 14- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 46 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, de acordo com a idade materna

QUARTO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS									
	IDADE									
	N	2	N	4	N	6	N	8		
		Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	
Fol. Totais	5	45574 ± 35738	31	74192 ± 57526	...	± ...	10	66321 ± 61231		
$p=0,57$										
Fol. Primordiais	5	33689 ± 25990	31	53341 ± 31371	...	± ...	10	48013 ± 39764		
$p=0,46$										
Fol. em Crescimento	5	11820 ± 19987	31	13139 ± 10373	...	± ...	10	18176 ± 23454		
$p=0,63$										
Células Germinativas	5	20040 ± 4441	31	37289 ± 36767	...	± ...	10	22581 ± 22041		
$p=0,43$										

4.4.2. Machos

O peso e o volume dos testículos fetais foi correlacionado positivamente com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,56$; $p=0,007$ e $r=0,91$; $p<0,0001$) (Figura 48), com o número das células de Leydig ($r=0,55$; $p=0,009$ e $r=0,89$; $p<0,0001$) (Figura 49). Somente o volume fetal foi correlacionado com a quantidade de células germinativas ($r=0,68$ e $p=0,0004$) (Figura 50).

As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 15.

A média da quantidade das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o número de folículos antrais nos ovários das vacas, o peso de carcaça, a revestimento de gordura na carcaça e a idade materna estão nas Tabelas 16 e 17.

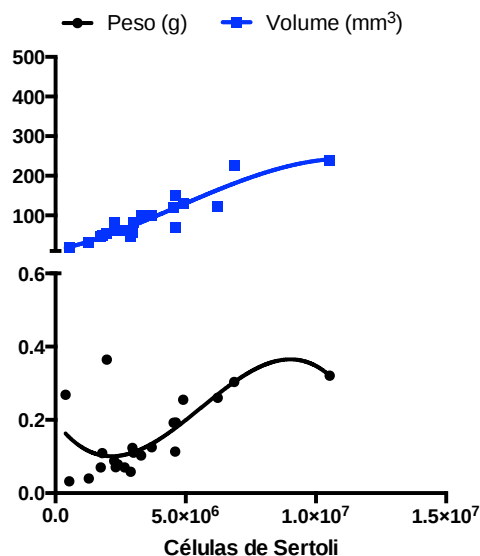


FIGURA 48- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli e o peso testicular fetal ($r=0,56$; $p=0,007$) de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,45$; $y=0,2-9,6 \times 10^{-8}X+2,7 \times 10^{-14}X^2-1,6 \times 10^{-21}X^3$). Correlação entre a quantidade de células de Sertoli e o volume testicular fetal ($r=0,89$; $p<0,0001$) de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,87$; $y=12+1,4 \times 10^{-5}X+3,1 \times 10^{-12}X^2-2,2 \times 10^{-19}X^3$).

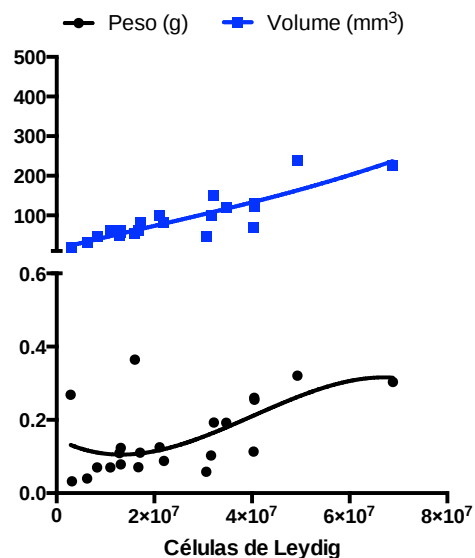


FIGURA 49- Correlação entre a quantidade de células de Leydig e o peso testicular fetal ($r=0,55$; $p=0,009$) de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,34$; $y=0,15-7,2 \times 10^{-9}X+3,3 \times 10^{-16}X^2-2,7 \times 10^{-24}X^3$). Correlação entre a quantidade de células de Leydig e o volume testicular fetal ($r=0,89$; $p<0,0001$) de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,77$; $y=15,3+3 \times 10^{-6}X-8,9 \times 10^{-15}X^2+1,7 \times 10^{-22}X^3$).

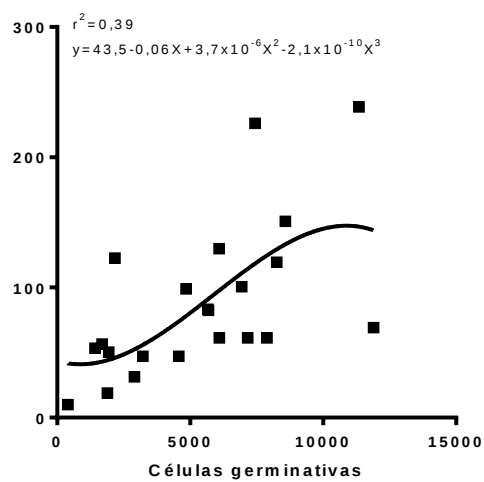


FIGURA 50- Correlação entre a quantidade de células germinativas e o volume testicular fetal ($r=0,55$; $p=0,009$) de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de quatro meses, com curva polinomial de terceira ordem.

Tabela 15- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 22 fetos bovinos da raça Nelore, com quatro meses de gestação

TIPO DE CÉLULA TESTICULAR	VARIÁVEIS MATERNAS					VARIÁVEIS FETAIS					
	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	PROGES TERONA (ng/ml)	INSULINA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	TESTOS TERONA (ng/ml)	PESO TESTICULAR (g)	VOLUME TESTICULAR (mm3)
CÉLULAS DE SERTOLI											
r valor	0,04	-0,25	-0,12	-0,05	-0,07	0,14	-0,40	0,14	0,12	0,56	0,91
p valor	0,85	0,27	0,59	0,83	0,78	0,53	0,10	0,57	0,60	0,01	<.0001
N	22	22	22	22	20	21	18	19	21	22	22
CÉLULAS DE LEYDIG											
r valor	-0,01	-0,11	0,05	-0,05	0,06	0,03	-0,26	-0,05	0,23	0,55	0,89
p valor	0,96	0,61	0,81	0,83	0,81	0,91	0,30	0,84	0,32	0,01	<.0001
N	22	22	22	22	20	21	18	19	21	22	22
CÉLULAS GERMINATIVAS											
r valor	-0,06	-0,27	-0,15	0,09	0,14	0,33	-0,30	-0,16	0,22	0,10	0,69
p valor	0,80	0,22	0,50	0,68	0,55	0,14	0,22	0,50	0,35	0,67	0,0004
N	22	22	22	22	20	21	18	19	21	22	22

4.5 Quinto mês gestacional

4.5.1 Fêmeas

O peso e o volume ovarianos fetais foram correlacionados com o número de folículos presentes nos ovários ($r=0,67$; $p=0,0005$ e $r=0,60$; $p=0,002$) (Figura 51). A idade materna foi correlacionada positivamente com a QFOF ($r=0,50$ e $p=0,01$) (Figura 52), já a concentração plasmática de insulina materna foi correlacionada negativamente com a QFOF ($r=-0,57$; $p=0,004$) (Figura 53). Do mesmo modo, os diferentes tipos foliculares também apresentaram correlação com estas variáveis, sendo os folículos primordiais e primários correlacionados positivamente com a idade materna ($r=0,45$ e $p=0,02$ e $r=0,42$ e $p=0,04$ respectivamente) e negativamente com a insulina materna ($r=-0,54$ e $p=0,007$ e $r=-0,49$ e $p=0,01$ respectivamente). Os folículos secundários foram correlacionados positivamente com a PFOA materna ($r=0,78$ e $p=0,006$) (Figura 54) e negativamente com a concentração plasmática de insulina materna ($r=-0,60$; $p=0,02$).

As correlações entre os diferentes tipos foliculares e as variáveis maternas estão representadas na Tabela 18. A média da quantidade dos folículos ovarianos dos fetos de acordo com a PFOA, PC, RGC e idade maternos estão apresentadas nas Tabelas 19 e 20.

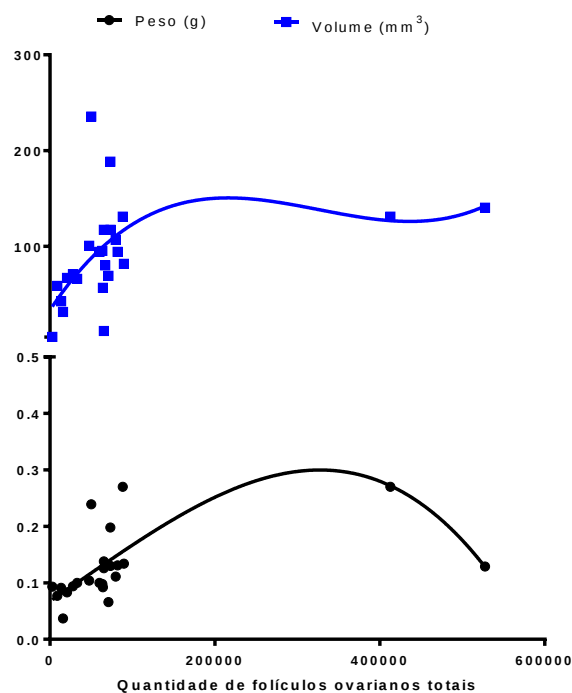


FIGURA 51- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,67$; $p=0,0005$) de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,46$; $y=0,07+9,9 \times 10^{-7}X+4,6 \times 10^{-13}X^2-4 \times 10^{-18}X^3$) e correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,60$; $p=0,002$) de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,28$; $y=33,2+0,001X-4,5 \times 10^{-9}X^2+4,6 \times 10^{-15}X^3$).

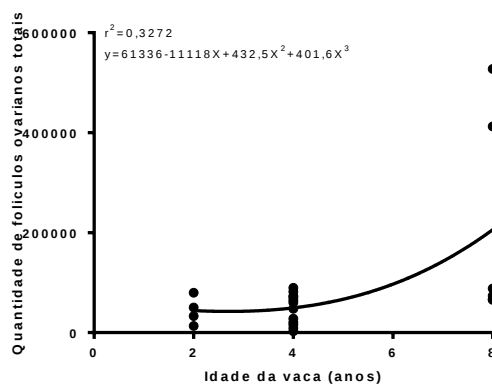


FIGURA 52- Correlação entre a idade materna e a quantidade folicular ovariana fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore (2 anos, $n=4$; 4 anos, $n=14$; 8 anos, $n=6$), com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,50$; $p=0,01$).

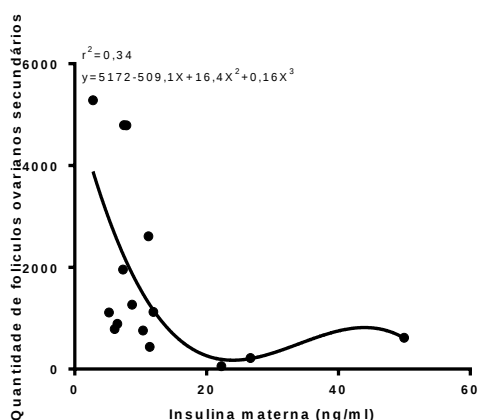


FIGURA 53- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de folículos ovarianos totais fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de primeira ordem ($r = -0,57$; $p = 0,004$).

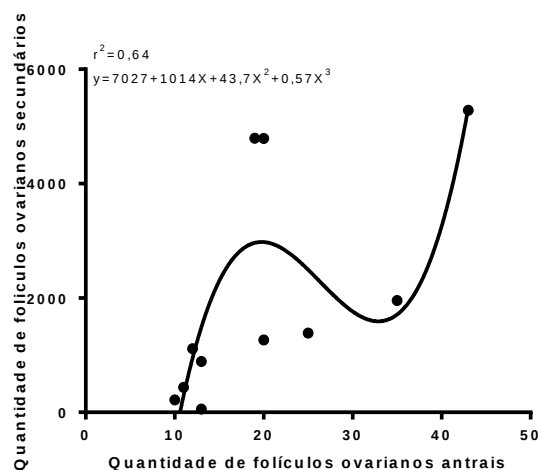


FIGURA 54- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos antrais materno e a quantidade de folículos ovarianos secundários fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de primeira ordem ($r = 0,78$ e $p = 0,006$).

Tabela 18- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com cinco meses de gestação

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	PESO DE CARCAÇA A (kg)	IDADE (Anos)	RGC	VARIÁVEIS MATERNAS			VARIÁVEIS FETAIS				
				FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm³)	
PRIMORDIAL											
r valor	0,23	0,45	0,26	-0,03	-0,15	-0,54	0,08	0,36	0,49	0,27	
p valor	0,29	0,02	0,21	0,89	0,52	0,007	0,75	0,09	0,02	0,21	
N	24	24	24	20	20	23	21	24	23	23	
PRIMARIO											
r valor	0,23	0,42	0,10	-0,34	-0,15	-0,49	0,16	0,30	0,66	0,41	
p valor	0,28	0,04	0,65	0,14	0,53	0,01	0,48	0,15	0,001	0,05	
N	24	24	24	20	20	23	21	24	23	23	
SECUNDARIO											
r valor	0,24	0,10	0,15	0,78	0,37	-0,60	0,04	0,04	0,22	0,58	
p valor	0,38	0,71	0,58	0,006	0,23	0,02	0,89	0,89	0,44	0,02	
N	16	16	16	12	12	15	14	16	15	15	
CRESCIMENTO											
r valor	0,24	0,36	0,11	-0,39	-0,15	-0,49	0,19	0,30	0,66	0,42	
p valor	0,26	0,09	0,60	0,09	0,54	0,02	0,42	0,16	0,00	0,05	
N	24	24	24	20	20	23	21	24	23	23	
TOTAL DE FOLÍCULOS											
r valor	0,23	0,50	0,24	-0,12	-0,15	-0,57	0,14	0,35	0,67	0,32	
p valor	0,27	0,01	0,27	0,62	0,52	0,004	0,55	0,10	0,001	0,14	
N	24	24	24	20	20	23	21	24	23	23	

Tabela 19- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas

QUINTO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS											
	POPULAÇÃO DE FOLÍCULOS OVARIANOS ANTRAIS MATERNOS											
	N	ALTA			N	INTERMEDIÁRIA			N	BAIXA		
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais <i>p=0,12</i>	7	60183	±	28970	8	158738	±	195187	9	45796	±	31633
Fol. Primordiais <i>p=0,14</i>	7	36857	±	21399	8	110804	±	143679	9	31431	±	24078
Fol. em Crescimento <i>p=0,11</i>	7	14364	±	11893	8	47934	±	53274	9	23326	±	12977
RENDIMENTO DE GORDURA NA CARCAÇA												
	N	1 - 2mm			N	3 - 6 mm			N	7 - 10mm		
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais <i>p=0,11</i>	13	85931	±	135862	9	53927	±	21825	2	250453	±	229356
Fol. Primordiais <i>p=0,10</i>	13	55623	±	96747	9	37205	±	19235	2	184683	±	179823
Fol. em Crescimento <i>p=0,18</i>	13	30307	±	40272	9	16722	±	11353	2	65771	±	49532
PESO DE CARCAÇA												
	N	LEVE			N	INTERMEDIÁRIO			N	PESADO		
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais <i>p=0,17</i>	4	54382	±	31186	18	78116	±	115347	2	239862	±	244334
Fol. Primordiais <i>p=0,16</i>	4	39598	±	23909	18	51138	±	82202	2	174222	±	194618
Fol. em Crescimento <i>p=0,23</i>	4	14783	±	8732	18	26979	±	34947	2	65641	±	49716

Tabela 20- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 24 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, de acordo com a idade materna

QUINTO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS											
	IDADE											
	N	2		N	4		N	6		N	8	
		Média	Desv Pad		Média	Desv Pad		Média	Desv Pad		Média	Desv Pad
Fol. Totais <i>p=0,02</i>	4	44045 b	± 28082	14	49491 b	± 28749	...	± ...	6	205715 a	± 208069	
Fol. Primordiais <i>p=0,02</i>	4	28004 b	± 23294	14	31538 b	± 21721	...	± ...	6	145627 a	± 152607	
Fol. em Crescimento <i>p=0,02</i>	4	16041 b	± 11795	14	17953 b	± 13685	...	± ...	6	60088 a	± 56567	

4.5.2 Machos

O peso e o volume dos testículos fetais foi correlacionado positivamente com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,35$; $p=0,04$ e $r=0,79$; $p<0,0001$) (Figura 55), com o número das células de Leydig ($r=0,36$; $p=0,04$ e $r=0,80$; $p<0,0001$) (Figura 56). Somente o volume fetal foi correlacionado com a quantidade de células germinativas ($r=0,65$ e $p<0,0001$) (Figura 57).

A idade materna foi correlacionada positivamente com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,47$ e $p=0,006$) (Figura 58) e de Leydig ($r=0,46$ e $p=0,007$) (Figura 59) dos ovários fetais. A população de folículos antrais nos ovários maternos foi correlacionado positivamente com a quantidade de células de Sertoli nos testículos fetais ($r=0,52$ e $p=0,006$) (Figura 60) e com a quantidade de células germinativas ($r=0,64$ e $p=0,0003$) (Figura 61).

Houve correlação positiva entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas nos testículos ($r=0,37$ e $p=0,04$) (Figura 62). O peso na carcaça materna foi correlacionada negativamente com a concentração plasmática de testosterona fetal ($r=-0,37$ e $p=0,04$) (Figura 63) e a concentração plasmática de leptina materna foi correlacionada positivamente com a concentração plasmática de testosterona ($r=0,48$ e $p=0,01$) (Figura 64).

As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 21.

A média da quantidade das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o número de folículos antrais nos ovários das vacas, o peso de carcaça, a revestimento de gordura na carcaça e a idade materna estão nas Tabelas 22 e 23.

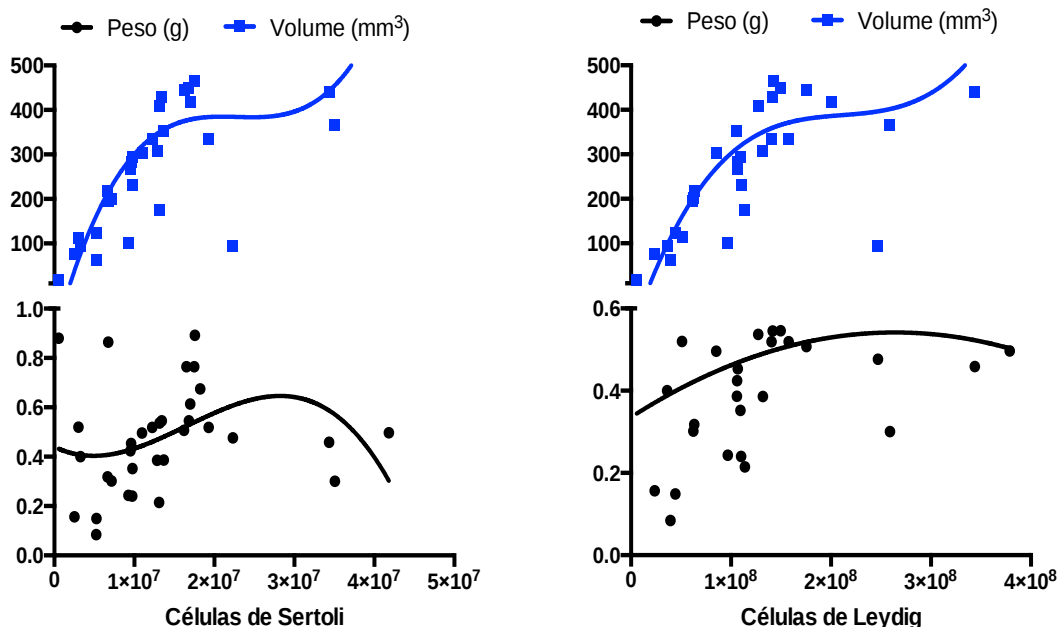


FIGURA 55- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o peso testicular fetal ($r=0,35$; $p=0,04$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,11$; $y=0,44-1,6 \times 10^{-8}X+1,9 \times 10^{-15}X^2-3,8 \times 10^{-23}X^3$) e correlação entre quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o volume testicular fetal ($r=0,79$; $p<0,0001$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,67$; $y=-108,7+6,6 \times 10^{-5}X-2,9 \times 10^{-12}X^2+4,2 \times 10^{-20}X^3$).

FIGURA 56- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso testicular fetal ($r=0,36$; $p=0,04$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem ($r^2=0,06$; $y=0,34+1,6 \times 10^{-9}X-3 \times 10^{-18}X^2$) e correlação entre quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o volume testicular fetal ($r=0,80$; $p<0,0001$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,67$; $y=-107,1+6,7 \times 10^{-6}X-3,1 \times 10^{-14}X^2+4,9 \times 10^{-23}X^3$).

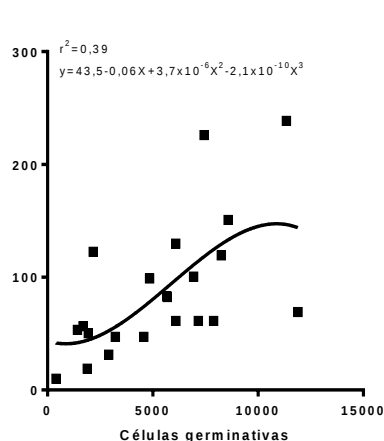


FIGURA 57- Correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o volume testicular fetal ($r=0,65$; $p<0,0001$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de terceira ordem.

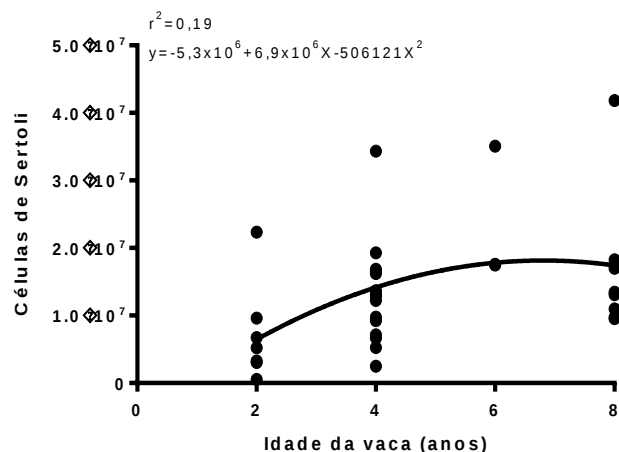


FIGURA 58- Correlação entre a idade materna e a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal ($r=0,47$; $p=0,006$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem (2 anos, $n=6$; 4 anos, $n=15$; 6 anos, $n=2$; 8 anos, $n=8$).

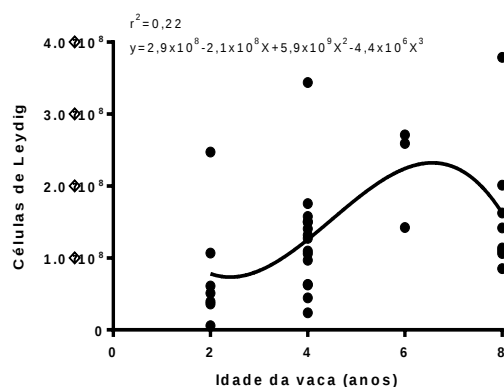


FIGURA 59- Correlação entre a idade materna e a quantidade de células de Leydig no testículo fetal ($r=0,46$; $p=0,007$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem (2 anos, $n=6$; 4 anos, $n=15$; 6 anos, $n=3$; 8 anos, $n=8$).

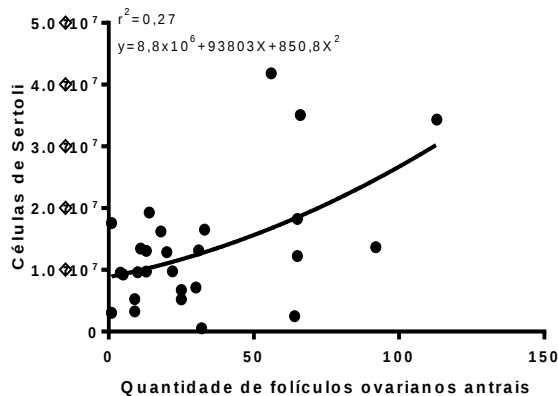


FIGURA 60- Correlação entre quantidade folículos antrais materna e a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal ($r=0,52$; $p=0,006$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem.

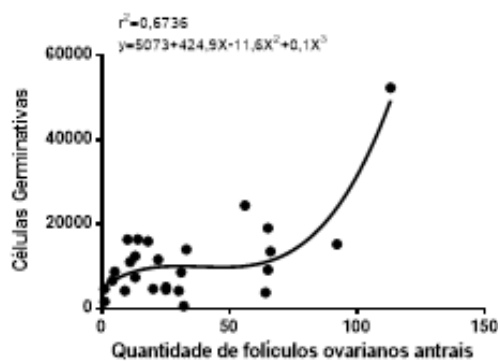


FIGURA 61- Correlação entre a quantidade de folículos antrais materna e a quantidade de células germinativas no testículo ($r=0,64$; $p=0,0003$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem.

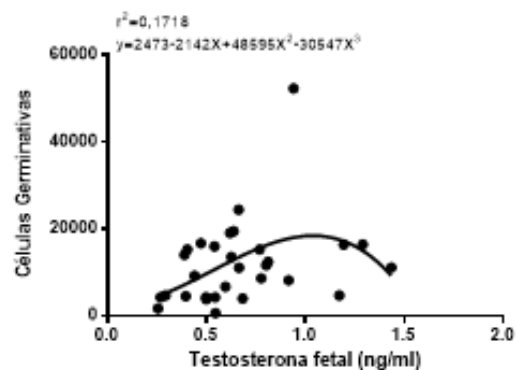


FIGURA 62- Correlação entre concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas no testículo ($r=0,37$; $p=0,04$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem.

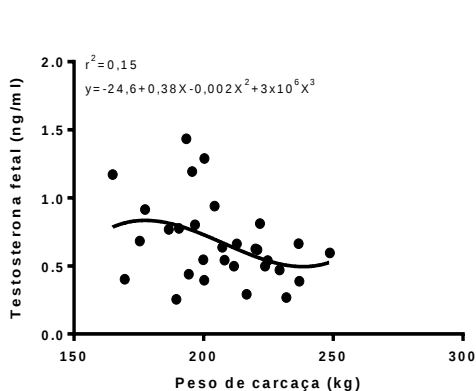


FIGURA 63- Correlação entre o peso de carcaça materna e a concentração plasmática de testosterona ($r=-0,37$; $p=0,04$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem.

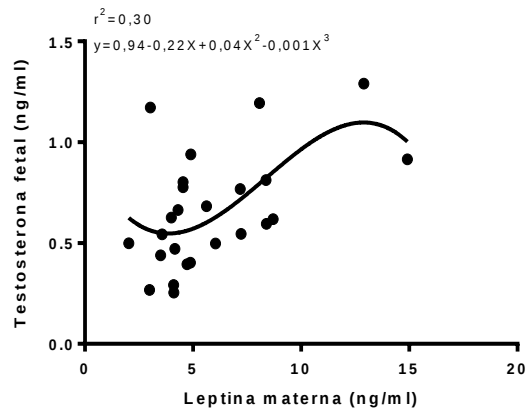


FIGURA 64- Correlação entre a concentração plasmática de leptina materna e a concentração plasmática de testosterona ($r=0,48$; $p=0,01$) de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de cinco meses, com curva polinomial de segunda ordem.

Tabela 21- Correlações entre os diferentes tipos de células dos testículos fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume testicular fetal de 33 fetos bovinos da raça Nelore, com cinco meses de gestação

TIPO DE CÉLULA TESTICULAR	VARIÁVEIS MATERNAS						VARIÁVEIS FETAIS				
	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	PROGES TERONA (ng/ml)	INSULINA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	TESTOS TERONA (ng/ml)	PESO TESTICULAR (g)	VOLUME TESTICULAR(m m3)
CÉLULAS DE SERTOLI	r valor	0,47	0,18	0,52	0,26	0,04	-0,13	0,21	0,26	0,35	0,79
	p valor	0,006	0,32	0,006	0,19	0,84	0,53	0,29	0,16	0,04	<.0001
	N	33	33	27	28	31	26	27	30	33	33
CÉLULAS DE LEYDIG	r valor	0,46	0,14	0,31	0,24	-0,04	-0,22	0,19	0,28	0,36	0,80
	p valor	0,007	0,45	0,12	0,22	0,84	0,29	0,33	0,14	0,04	<.0001
	N	33	33	27	28	31	26	27	30	33	33
CÉLULAS GERMINATIVAS	r valor	0,31	0,08	0,64	0,33	-0,15	-0,18	0,36	0,37	0,20	0,64
	p valor	0,08	0,66	0,0003	0,09	0,43	0,38	0,06	0,04	0,27	<.0001
	N	33	33	27	28	31	26	27	30	33	33

4.6 Sexto mês gestacional

4.6.1 Fêmeas

Foram encontradas correlações entre o peso e volume ovarianos fetais com o número de folículos ovarianos totais dos fetos ($r=0,56$; $p<0,0001$ e $r=0,57$; $p<0,0001$) (Figura 65). O PC materno foi correlacionado negativamente com a QFOF ($r=-0,34$ e $p=0,03$) (Figura 66), assim como com a quantidade de folículos primordiais ($r=-0,35$ e $p=0,01$) e em crescimento ($r=-0,29$ e $p=0,01$). A concentração plasmática de insulina materna foi correlacionada negativamente com a QFOF ($r=-0,31$ e $p=0,03$) (Figura 67), assim como os folículos primordiais ($r=-0,33$; $p=0,02$).

As correlações entre os diferentes tipos foliculares e as variáveis maternas estão representadas na Tabela 24. A média da quantidade dos folículos ovarianos dos fetos de acordo com a PFOA, PC, RGC e idade maternos estão apresentadas nas Tabelas 25 e 26.

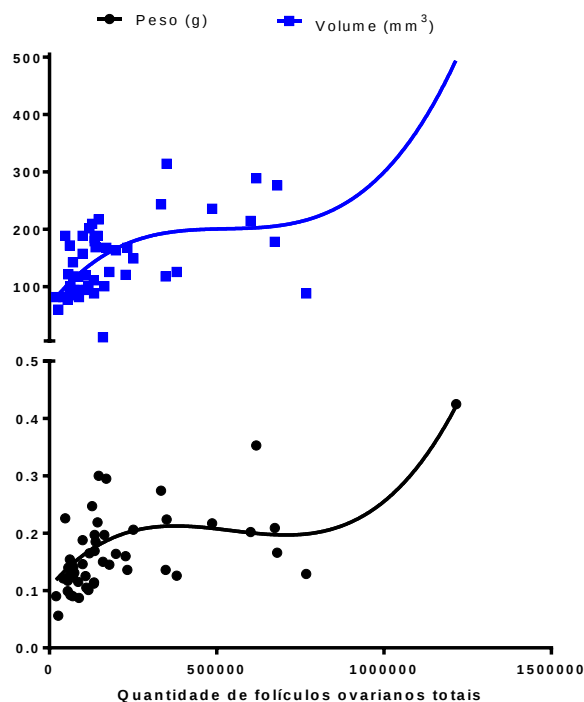


FIGURA 65- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,56$; $p<0,0001$) de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,2019$; $y=0,11+7\times10^{-7}X-1,4\times10^{-11}X^2+8,7\times10^{-19}X^3$) e correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,57$; $p<0,0001$) de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,5772$; $y=67+0,0007X-1,4\times10^{-9}X^2+8,7\times10^{-16}X^3$).

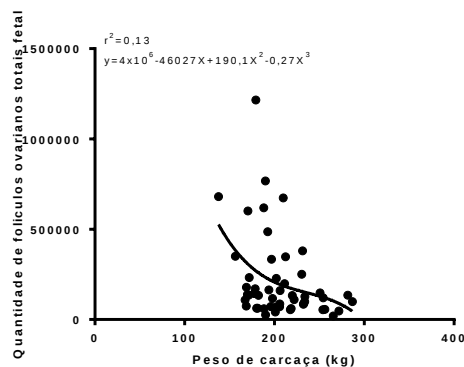


FIGURA 66- Correlação entre o peso de carcaça materno e a quantidade de folículos ovarianos totais de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=-0,34$; $p=0,003$).

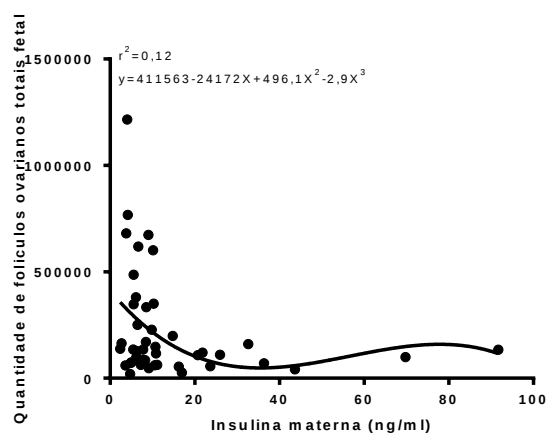


FIGURA 67- Correlação entre a concentração de insulina plasmática materna e a população de folículos em crescimento fetal de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r = -0,31$; $p = 0,03$).

Tabela 24- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com seis meses de gestação

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	VARIÁVEIS MATERNAS						VARIÁVEIS FETAIS			
	PESO DE CARCAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm ³)
PRIMORDIAL										
r valor	-0,35	0,13	-0,21	-0,22	-0,06	-0,33	0,04	0,08	0,51	0,50
p valor	0,01	0,37	0,14	0,20	0,73	0,02	0,80	0,61	0,0001	0,0002
N	51	51	51	36	36	45	40	48	51	51
PRIMARIO										
r valor	-0,29	0,19	-0,07	-0,25	-0,05	-0,20	-0,04	-0,05	0,47	0,54
p valor	0,04	0,18	0,61	0,14	0,79	0,20	0,79	0,74	0,0004	<0,0001
N	51	51	51	36	36	45	40	48	51	51
SECUNDARIO										
r valor	-0,24	0,20	0,17	-0,01	-0,11	-0,26	0,06	-0,16	0,54	0,56
p valor	0,11	0,19	0,26	0,98	0,56	0,10	0,71	0,31	0,0001	<0,0001
N	44	44	44	32	32	40	36	43	44	44
CRESCIMENTO										
r valor	-0,29	0,19	-0,06	-0,24	-0,06	-0,20	-0,02	-0,05	0,49	0,56
p valor	0,01	0,18	0,66	0,15	0,75	0,18	0,89	0,72	0,00	<0,0001
N	51	51	51	36	36	45	40	48	51	51
TERCIARIO										
r valor	-0,61	0,36	-0,03	0,26	-0,43	-0,45	0,44	-0,64	0,53	0,67
p valor	0,06	0,31	0,93	0,62	0,39	0,20	0,24	0,06	0,12	0,03
N	10	10	10	6	6	10	9	9	10	10
TOTAL DE FOLÍCULOS										
r valor	-0,34	0,17	-0,16	-0,27	-0,06	-0,31	0,02	0,03	0,56	0,58
p valor	0,03	0,25	0,26	0,11	0,73	0,03	0,92	0,86	<0,0001	<0,0001
N	51	51	51	36	36	45	40	48	51	51

Tabela 26- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 51 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, de acordo com a idade materna

SEXTO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS									
	IDADE									
	N	2	N	4	N	6	N	8		
		Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	
Fol. Totais $p=0,78$	9	157624 ± 233476	16	222146 ± 212497	8	277026 ± 393404	18	204601 ± 171387		
Fol. Primordiais $p=0,90$	9	112432 ± 167206	16	153028 ± 157197	8	173500 ± 270765	18	142766 ± 133514		
Fol. em Crescimento $p=0,58$	9	45190 ± 66361	16	69113 ± 59938	8	103524 ± 124730	18	61835 ± 51103		
Fol. Terciários $p=0,38$	2	6 ± 0	3	28 ± 33	2	69 ± 72	3	16 ± 12		

4.6.2 Machos

O peso e o volume dos testículos fetais foi correlacionado positivamente com a quantidade de células de Leydig ($r=0,41$; $p=0,01$ e $r=0,68$; $p<0,0001$) (Figura 68) e com o número de células germinativas ($r=0,41$; $p=0,009$ e $r=0,66$; $p<0,0001$) (Figura 69). Somente o volume fetal foi correlacionado com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,63$ e $p<0,0001$) (Figura 70).

A concentração plasmática de testosterona fetal foi correlacionada positivamente com a quantidade de células germinativas no testículo fetal ($r=0,37$ e $p=0,04$) (Figura 71).

As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 27.

A média da quantidade das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o número de folículos antrais nos ovários das vacas, o peso de carcaça, o revestimento de gordura na carcaça e a idade materna estão nas Tabelas 28 e 29.

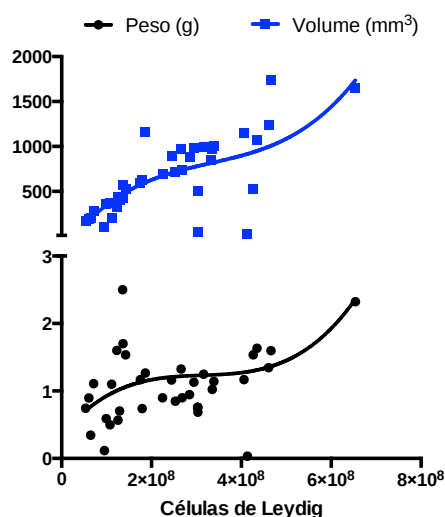


FIGURA 68- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso testicular fetal ($r=0,40$; $p=0,01$) de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,12$; $y=0,35+8 \times 10^{-9}X-2,5 \times 10^{-17}X^2+2,6 \times 10^{-26}X^3$) e a correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o volume testicular fetal ($r=0,67$; $p<0,0001$) de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,53$; $y=-162,4+6,6 \times 10^{-6}X-1,6 \times 10^{-14}X^2+1,7 \times 10^{-23}X^3$).

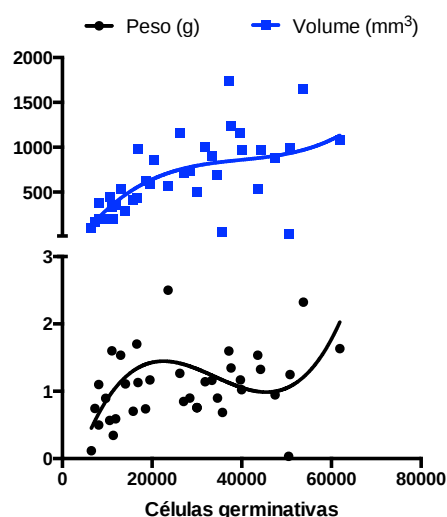


FIGURA 69- Correlação entre a quantidade de células de germinativas no testículo fetal e o peso testicular fetal ($r=0,36$; $p=0,02$) de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,53$; $y=0,8+0,0002X-7,8 \times 10^{-9}X^2+7,6 \times 10^{-14}X^3$) e a correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o volume testicular fetal ($r=0,63$; $p<0,0001$) de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,39$; $y=-295,7+0,076X-1,8 \times 10^{-6}X^2+1,5 \times 10^{-11}X^3$).

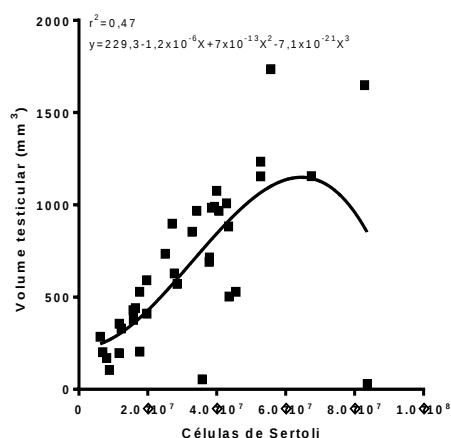


FIGURA 70- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli do testículos fetal e o volume testicular de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,63$; $p<0,0001$).

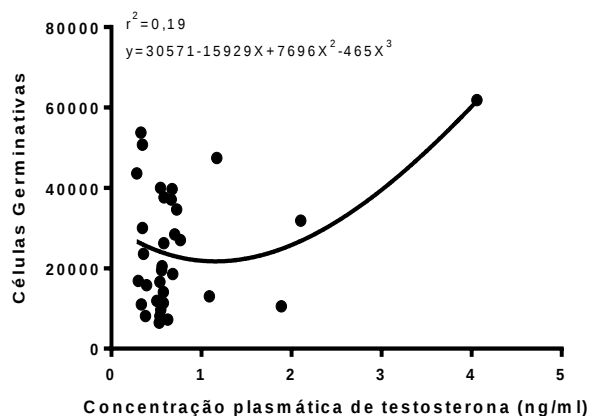


FIGURA 71- Correlação entre a concentração plasmática de testosterona fetal e a quantidade de células germinativas no testículo de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de seis meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,63$; $p<0,0001$).

Tabela 27- Correlações entre os diferentes tipos de células nos testículos fetais com as variáveis maternas, além da concentração plasmática de testosterona e do peso e do volume ovariano fetal de 39 fetos bovinos da raça Nelore, com seis meses de gestação

TIPO DE CÉLULA TESTICULAR	VARIÁVEIS MATERNAS					VARIÁVEIS FETAIS					
	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	PROGES TERONA (ng/ml)	INSULINA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	TESTOS TERONA (ng/ml)	PESO TESTICULAR (g)	VOLUME TESTICULAR (mm3)
CÉLULAS DE SERTOLI											
r valor	-0,09	-0,12	0,05	-0,16	-0,04	0,05	0,00	0,13	-0,05	0,27	0,63
p valor	0,59	0,47	0,78	0,33	0,82	0,76	0,98	0,47	0,80	0,09	<.0001
N	38	38	38	37	36	35	34	35		39	39
CÉLULAS DE LEYDIG											
r valor	-0,10	-0,07	0,06	-0,20	-0,05	0,00	-0,08	0,03	0,04	0,41	0,68
p valor	0,57	0,69	0,72	0,23	0,79	0,99	0,66	0,86	0,81	0,01	<.0001
N	38	38	38	37	36	35	34	35		39	39
CÉLULAS GERMINATIVAS											
r valor	-0,08	0,06	0,13	-0,07	0,10	0,00	-0,03	0,10	0,37	0,41	0,66
p valor	0,64	0,72	0,43	0,68	0,58	1,00	0,88	0,56	0,04	0,01	<.0001
N	38	38	38	37	36	35	34	35	35	39	39

4.7 Sétimo mês gestacional

4.7.1 Fêmeas

Foram encontradas correlações entre o peso e volume ovarianos fetais com o número de folículos ovarianos totais ($r=0,47$; $p=0,0007$ e $r=0,48$; $p=0,0009$) (Figura 72). O número de folículos terciários também foi correlacionado positivamente com o peso e volume ovariano ($r=0,63$; $p<0,0001$ e $r=0,71$; $p<0,0001$) (Figura 73). Foi observada correlação positiva entre o revestimento de gordura na carcaça materna com a QFOF ($r=0,34$ e $p=0,02$) (Figura 74), da mesma forma que entre os folículos primordiais e esta variável materna ($r=0,31$; $p=0,04$).

Por outro lado, a concentração plasmática de progesterona materna foi correlacionada negativamente com QFOF ($r=-0,45$; $p=0,005$) (Figura 75), assim como a quantidade de folículos primordiais e em crescimento também apresentaram esta correlação ($r=-0,41$; $p=0,01$ e $r=-0,44$; $p=0,0008$ respectivamente).

As correlações entre os diferentes tipos foliculares e as variáveis maternas estão representadas na Tabela 30. A média da quantidade dos folículos ovarianos dos fetos de acordo com a PFOA, PC, RGC e idade maternos estão apresentadas nas Tabelas 31 e 32.

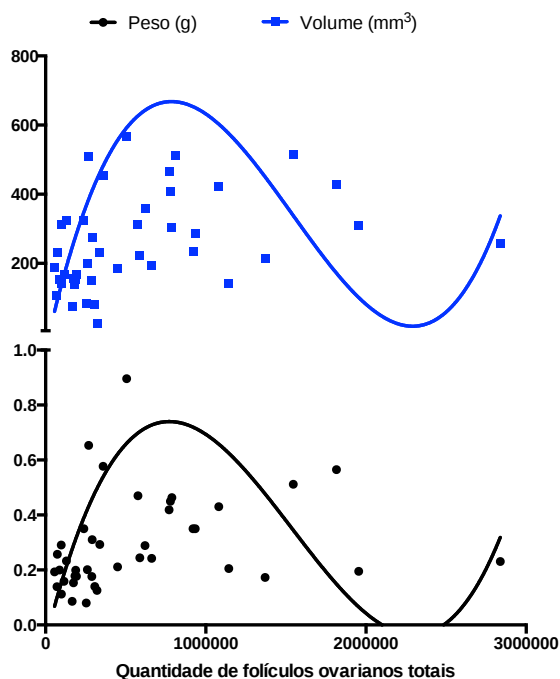


FIGURA 72- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,47$; $p=0,0007$) de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,1258$; $y=-0,06+2,3 \times 10^{-6}X-2 \times 10^{-12}X^2+4,3 \times 10^{-19}X^3$) e correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,48$; $p=0,0009$) de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,1108$; $y=-48,72+0,002X-1,8 \times 10^{-9}X^2+3,8 \times 10^{-16}X^3$).

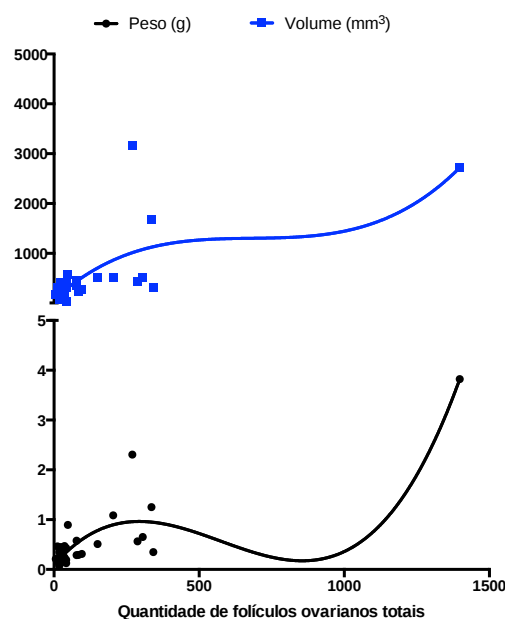


FIGURA 73- Correlação entre a população de folículos terciários no ovário fetal e o peso ovariano fetal ($r=0,63$; $p<0,0001$) de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,79$; $y=0,09+0,007X-1,5 \times 10^{-5}X^2+8,9 \times 10^{-9}X^3$) e correlação entre a de folículos primordiais no ovário fetal e o volume ovariano fetal ($r=0,71$; $p<0,0001$) de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,56$; $y=76,5+5,2X-0,007X^2+3,7 \times 10^{-6}X^3$).

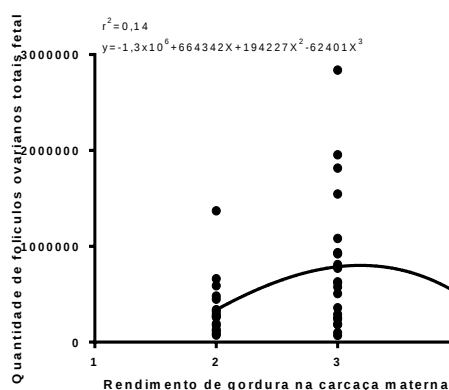


FIGURA 74- Correlação entre o revestimento de gordura na carcaça materna e a quantidade de folículos ovarianos totais de 45 fetos bovinos da raça Nelore (RGC 2, n=18; RGC 3, n=24; RGC 4, n=3), com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r = -0,34$; $p = 0,02$).

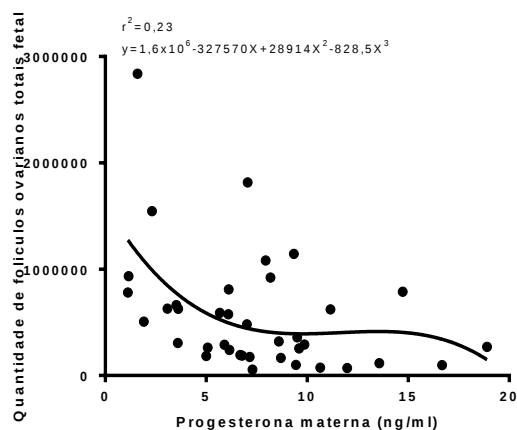


FIGURA 75- Correlação entre a concentração plasmática de progesterona materna e a quantidade de folículos ovarianos totais de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r = -0,45$; $p = 0,005$).

Tabela 30- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com sete meses de gestação

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	VARIÁVEIS MATERNAS						VARIÁVEIS FETAIS			
	PESO DE CARCAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm ³)
PRIMORDIAL										
r valor	-0,01	-0,07	0,31	0,01	0,19	0,28	-0,30	0,17	0,52	0,51
p valor	0,97	0,64	0,04	0,93	0,26	0,08	0,06	0,29	0,0003	0,0004
N	45	45	45	37	36	38	39	42	45	45
PRIMARIO										
r valor	-0,06	-0,19	0,25	0,14	-0,08	0,09	-0,41	0,08	0,31	0,32
p valor	0,68	0,21	0,10	0,41	0,65	0,59	0,001	0,61	0,04	0,03
N	45	45	45	37	36	38	39	42	45	45
SECUNDARIO										
r valor	-0,09	-0,26	0,09	0,31	0,08	0,07	-0,13	0,19	0,22	0,27
p valor	0,55	0,09	0,57	0,07	0,65	0,70	0,45	0,24	0,16	0,08
N	43	43	43	36	35	36	37	40	43	43
CRESCIMENTO										
r valor	-0,07	-0,19	0,25	0,14	-0,05	0,08	-0,44	0,09	0,31	0,33
p valor	0,63	0,20	0,10	0,40	0,75	0,65	0,008	0,55	0,04	0,03
N	45	45	45	37	36	38	39	42	45	45
TERCEARIO										
r valor	-0,31	-0,13	0,05	-0,06	0,13	0,04	0,04	0,31	0,63	0,71
p valor	0,07	0,45	0,76	0,75	0,51	0,82	0,83	0,08	<0,0001	<0,0001
N	34	34	34	29	28	29	31	32	34	34
TOTAL DE FOLÍCULOS										
r valor	-0,03	-0,11	0,34	0,06	0,12	0,21	-0,45	0,14	0,49	0,48
p valor	0,85	0,49	0,02	0,71	0,48	0,20	0,005	0,36	0,001	0,001
N	45	45	45	37	36	38	39	42	45	45

Tabela 32- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 45 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, de acordo com a idade materna

SÉTIMO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS															
	IDADE															
	N		2		N		4		N		6		N		8	
		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad		Média	Desv	Pad
Fol. Totais	5	695367	±	660838	18	668453	±	719567	2	176483	±	109950	20	529857	±	429714
p=0,64																
Fol. Primordiais	5	428228	±	508063	18	422247	±	527830	2	85513	±	61259	20	324800	±	294214
p=0,69																
Fol. em Crescimen	5	267139	±	170367	18	246203	±	201114	2	90970	±	48691	20	205038	±	195006
p=0,66																
Fol. Terciários	5	151	±	136	15	159	±	356	1	18	±	...	13	82	±	97
p=0,84																

4.7.2 Machos

O peso e o volume dos testículos fetais foi correlacionado positivamente com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,44$; $p=0,01$ e $r=0,80$; $p<0,0001$) (Figura 76), com o número de células de Leydig ($r=0,37$; $p=0,04$ e $r=0,79$; $p<0,0001$) (Figura 77) e a quantidade de células germinativas ($r=0,48$; $p=0,006$ e $r=0,68$; $p<0,0001$) (Figura 78).

A quantidade de folículos ovarianos totais maternos foi correlacionada positivamente com o número de células germinativas nos testículos fetais ($r=0,39$ e $p=0,04$) (Figura 79) e a quantidade de folículos ovarianos antrais materna foi correlacionada com o número de células de Sertoli ($r=0,40$ e $p=0,04$) (Figura 80).

A concentração plasmática de insulina materna foi correlacionada negativamente com a quantidade de células de Sertoli ($r=-0,43$ e $p=0,02$) (Figura 81), de Leydig ($r=-0,43$ e $p=0,02$) (Figura 82) e germinativas ($r=-0,36$ e $p=0,04$) (Figura 83).

As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 33.

A média da quantidade das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o número de folículos antrais nos ovários das vacas, o peso de carcaça, o revestimento de gordura na carcaça e a idade materna estão nas Tabelas 34 e 35.

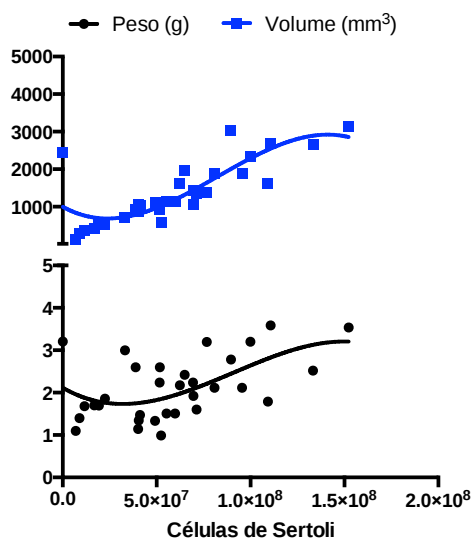


FIGURA 76- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o peso testicular ($r=0,44$; $p=0,01$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,32$; $y=2,1-5,6 \times 10^{-8}X+4,9 \times 10^{-16}X^2-1,8 \times 10^{-24}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o volume testicular ($r=0,80$; $p<0,0001$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,69$; $y=1001-2,8 \times 10^{-5}X+6,9 \times 10^{-13}X^2+2,8 \times 10^{-21}X^3$).

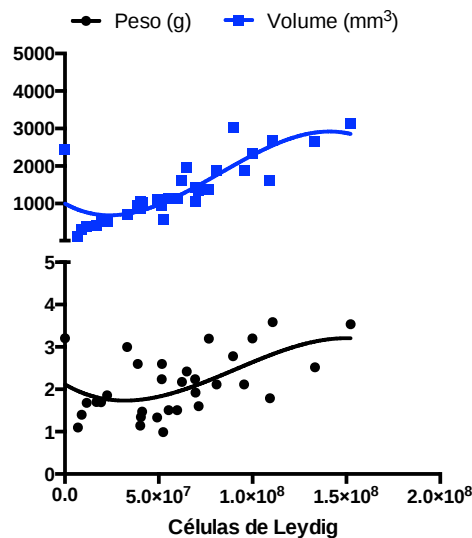


FIGURA 77- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso testicular ($r=0,37$; $p=0,04$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,32$; $y=2,1-2,6 \times 10^{-8}X+4,9 \times 10^{-16}X^2-1,8 \times 10^{-24}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o volume testicular ($r=0,71$; $p<0,0001$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,69$; $y=1001-2,8 \times 10^{-5}X+6,8 \times 10^{-13}X^2+2,8 \times 10^{-21}X^3$).

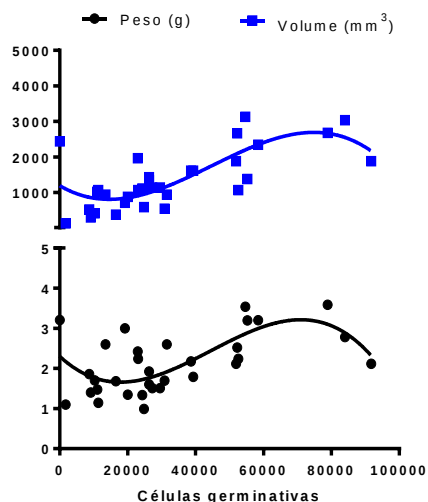


FIGURA 78- Correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o peso testicular ($r=0,37$; $p=0,04$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,32$; $y=2,1-2,6 \times 10^{-8}X+4,9 \times 10^{-16}X^2-1,8 \times 10^{-24}X^3$) e correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o volume testicular ($r=0,71$; $p<0,0001$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,69$; $y=1001-2,8 \times 10^{-5}X+6,8 \times 10^{-13}X^2+2,8 \times 10^{-21}X^3$).

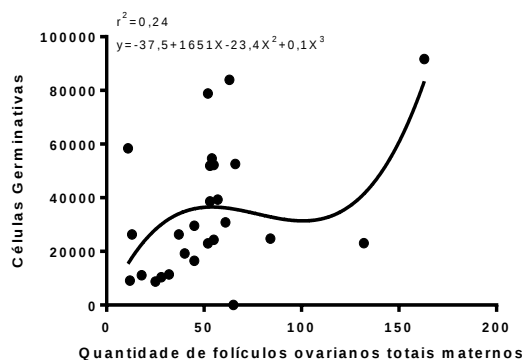


FIGURA 79- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais maternos e a quantidade de células germinativas no testículo ($r=0,37$; $p=0,04$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem.

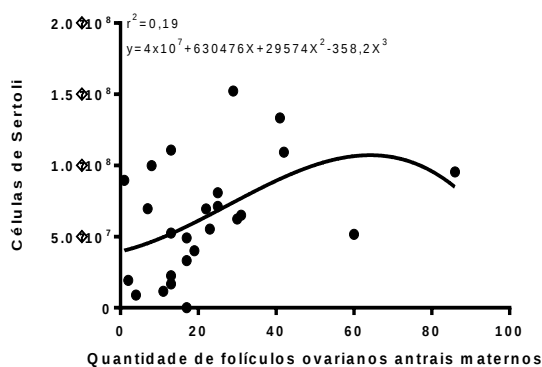


FIGURA 80- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos antrais maternos e a quantidade de células de Sertoli no testículo ($r=0,40$; $p=0,04$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem.

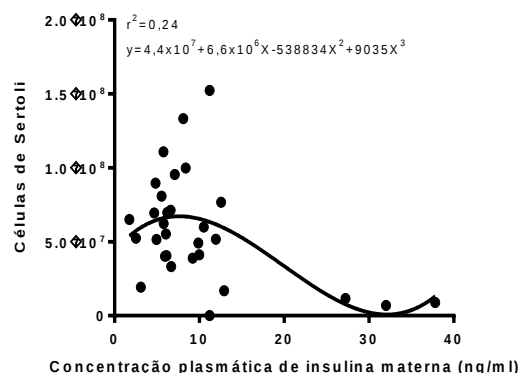


FIGURA 81- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Sertoli no testículo ($r=-0,43$; $p=0,02$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem.

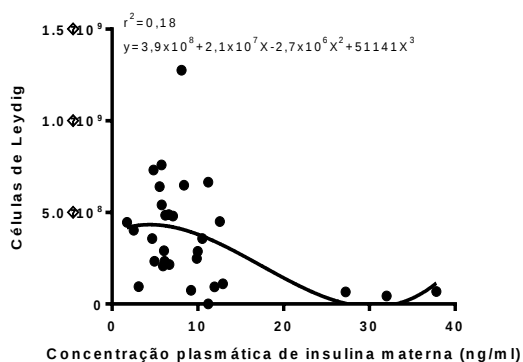


FIGURA 82- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Leydig no testículo ($r=-0,43$; $p=0,02$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem.

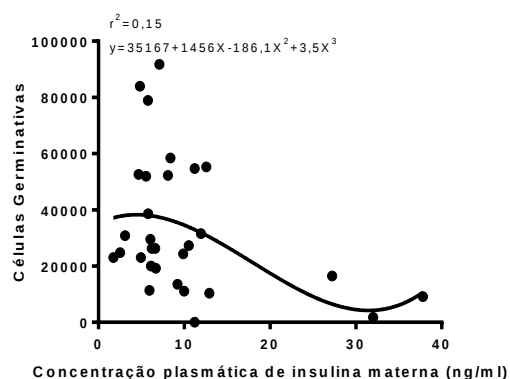


FIGURA 83- Correlação entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células germinativas no testículo ($r=-0,36$; $p=0,04$) de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, com curva polinomial de terceira ordem.

Tabela 33- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com sete meses de gestação

TIPO DE CÉLULA TESTICULAR	VARIÁVEIS MATERNAS					VARIÁVEIS FETAIS					
	PESO DE CARCAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	PROGES TERONA (ng/ml)	INSULINA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	TESTOS TERONA (ng/ml)	PESO TESTICULAR (g)	VOLUME TESTICULAR (mm3)
CÉLULAS DE SERTOLI	-0,24	-0,06	-0,13	0,40	0,21	0,14	-0,43	-0,14	-0,28	0,44	0,80
	0,18	0,74	0,47	0,04	0,30	0,46	0,02	0,45	0,13	0,01	<0,0001
	32	32	32	25	26	29	30	30	30	32	32
CÉLULAS DE LEYDIG	-0,18	-0,20	-0,17	0,29	0,13	0,12	-0,43	-0,13	-0,22	0,37	0,79
	0,31	0,28	0,36	0,15	0,52	0,54	0,02	0,49	0,24	0,04	<0,0001
	32	32	32	25	26	29	30	30	30	32	32
CÉLULAS GERMINATIVAS	-0,10	0,12	0,03	0,19	0,39	0,43	-0,36	-0,23	-0,29	0,48	0,68
	0,59	0,50	0,85	0,36	0,04	0,02	0,04	0,22	0,12	0,01	<0,0001
	32	32	32	25	26	29	30	30	30	32	32

Tabela 34- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, de acordo com o peso de carcaça, revestimento de gordura na carcaça e quantidade de folículos antrais maternas

SÉTIMO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS											
	POPULAÇÃO DE FOLICULOS OVARIANOS ANTRAIS MATERNOS											
	N		ALTA		N		INTERMEDIÁRIA		N		BAIXA	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Células de Sertoli <i>p=0,18</i>	6	86158525	±	31791381	9	61280689	±	41856091	11	49320903	±	37655791
Células de Leydig <i>p=0,20</i>	6	581675774	±	357209135	9	345549086	±	217027148	11	346633137	±	272730481
Células Germinativas <i>p=0,52</i>	6	44660	±	25583	9	29993	±	19390	11	32632	±	28088
RENDIMENTO DE GORDURA NA CARÇAÇA												
	N		1 - 2mm		N		3 - 6 mm		N		7 - 10mm	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Células de Sertoli <i>p=0,62</i>	18	62889269	±	34666445	8	47601660	±	36570534	6	62127345	±	47786325
Células de Leydig <i>p=0,56</i>	18	411663986	±	303301658	8	311448019	±	250116219	6	293839637	±	218678716
Células Germinativas <i>p=0,83</i>	18	34488	±	26980	8	28417	±	20974	6	33011	±	17093
PESO DE CARÇAÇA												
	N		LEVE		N		INTERMEDIÁRIO		N		PESADO	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Células de Sertoli <i>p=0,40</i>	2	79182288	±	42524906	28	59613116	±	37494608	2	29026185	±	13840248
Células de Leydig <i>p=0,35</i>	2	381292755	±	188412692	28	383298725	±	280923051	2	84811964	±	13989999
Células Germinativas <i>p=0,81</i>	2	31817	±	10622	28	33508	±	24807	2	22166	±	12258

Tabela 35- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos celulares presentes nos testículos de 32 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de sete meses, de acordo com a idade materna

SÉTIMO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS											
	IDADE											
	2		4		6		8					
	N		N		N		N					
	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad	Média	Desv Pad				
Células de Sertoli	3	61092523 ± 34679412	12	57039420 ± 26024475	1	41181927 ± ...	16	61040730 ± 46390429				
p=0,96												
Células de Leydig	3	460206413 ± 2,86E+08	12	363557519 ± 177322926	1	287674395 ± ...	16	352099367 ± 345301106				
p=0,93												
Células Germinativas	3	39655 ± 39354	12	26376 ± 13348	1	11073 ± ...	16	37477 ± 26590				
p=0,47												

4.8 Oitavo mês gestacional

4.8.1 Fêmeas

O peso e o volume ovariano fetal foram correlacionados positivamente com a quantidade de folículos terciários/antrais existentes no ovário ($r=0,95$; $p<0,0001$ e $r=0,91$; $p<0,0001$) (Figura 84) e com a quantidade de folículos secundários ($r=0,46$; $p=0,04$ e $r=0,46$; $p=0,04$ respectivamente). A quantidade de folículos ovariana total materna foi correlacionada positivamente com o QFOF ($r=0,48$; $p=0,05$) (Figura 85). A idade materna foi correlacionada positivamente com a população de folículos em crescimento nos ovários fetais ($r=0,46$; $p=0,04$) (Figura 86), assim como a concentração plasmática materna de leptina ($r=0,51$ e $p=0,04$) (Figura 87).

As correlações entre os diferentes tipos foliculares e as variáveis maternas estão representadas na Tabela 36. A média da quantidade dos folículos ovarianos dos fetos de acordo com a PFOA, PC, RGC e idade maternos estão apresentadas nas tabelas 37 e 38.

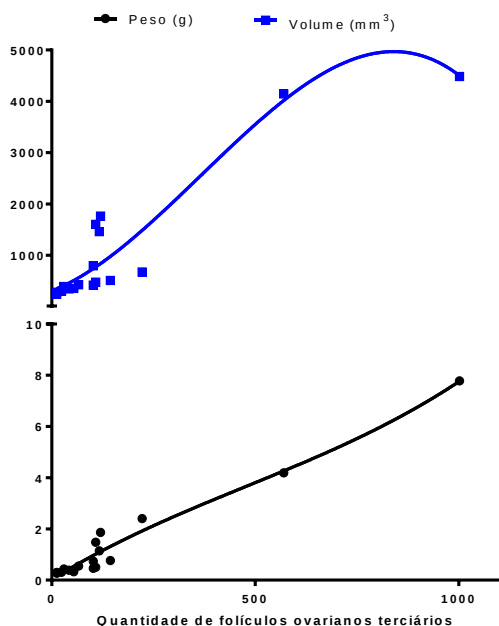


FIGURA 84- Correlação entre a população de folículos totais no ovário fetal e o peso ovariano ($r=0,95$; $p<0,0001$) de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,9665$; $y=0,03+0,01X-7\times10^{-6}X^2+4,9\times10^{-9}X^3$) e correlação entre a quantidade de folículos totais no ovário fetal e o volume ovariano ($r=0,91$; $p<0,0001$) de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,8852$; $y=305,6+3,1X+0,01^9X^2-1,1\times10^{-5}X^3$).

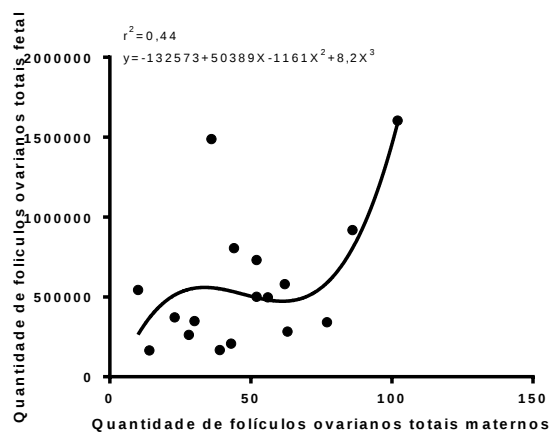


FIGURA 85- Correlação entre a quantidade de folículos ovarianos totais materna e a quantidade de folículos ovarianos totais de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,48$; $p=0,05$).

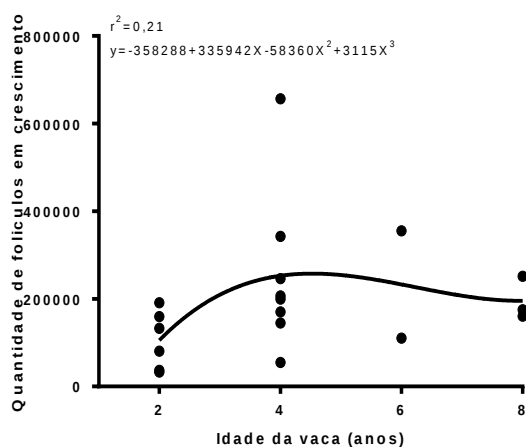


FIGURA 86- Correlação entre a idade materna e a quantidade de folículos em crescimento de 19 fetos bovinos da raça Nelore (2 anos, n=5; 4 anos, n=8; 6 anos, n=2; 8 anos, n=3), com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,46$; $p=0,04$).

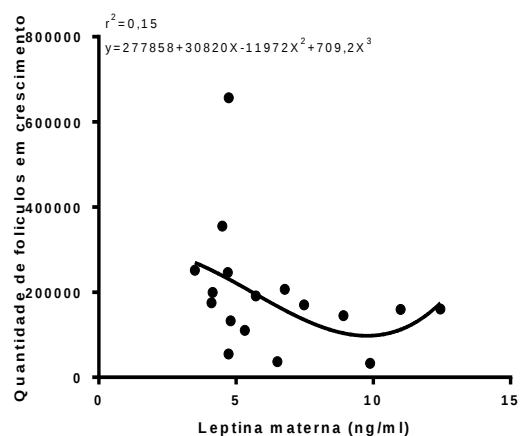


FIGURA 87- Correlação entre a concentração plasmática de leptina materna e a quantidade de folículos em crescimento de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r=0,51$; $p=0,04$).

Tabela 36- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com oito meses de gestação

TIPO DE FOLÍCULO OVARIANO	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	VARIÁVEIS MATERNAS			VARIÁVEIS FETAIS				
				FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	INSULINA (ng/ml)	PROGES TERONA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	PESO OVARIANO (g)	VOLUME OVARIANO (mm³)	
PRIMORDIAL	r valor	-0,10	0,40	0,08	0,34	0,48	-0,12	0,20	-0,40	-0,15	-0,03
	p valor	0,68	0,09	0,75	0,18	0,05	0,66	0,44	0,11	0,53	0,90
	N	19	19	19	17	17	16	17	17	19	19
PRIMARIO	r valor	-0,09	0,45	-0,14	0,29	0,42	-0,38	0,18	-0,52	-0,03	0,08
	p valor	0,70	0,05	0,56	0,26	0,10	0,15	0,49	0,03	0,90	0,75
	N	19	19	19	17	17	16	17	17	19	19
SECUNDARIO	r valor	-0,36	-0,06	-0,14	0,32	0,20	-0,19	-0,11	-0,21	0,46	0,46
	p valor	0,14	0,80	0,58	0,21	0,45	0,47	0,67	0,41	0,04	0,04
	N	19	19	19	17	17	16	17	17	19	19
CRESCIMENTO	r valor	-0,13	0,46	-0,12	0,12	0,43	-0,36	0,16	-0,51	-0,02	0,08
	p valor	0,60	0,04	0,61	0,64	0,09	0,17	0,54	0,04	0,93	0,74
	N	19	19	19	17	17	16	17	17	19	19
TERCIARIO	r valor	-0,18	-0,14	0,10	0,34	0,08	0,00	-0,33	0,19	0,95	0,91
	p valor	0,49	0,60	0,71	0,18	0,78	0,99	0,21	0,50	<.0001	<.0001
	N	17	17	17	15	15	15	16	15	17	17
TOTAL DE FOLÍCULOS	r valor	-0,11	0,41	-0,09	-0,06	0,34	-0,21	0,21	-0,40	-0,13	-0,01
	p valor	0,65	0,08	0,70	0,81	0,18	0,43	0,41	0,11	0,59	0,95
	N	19	19	19	17	17	16	17	17	19	19

Tabela 38- Média e desvio padrão da quantidade dos diferentes tipos foliculares presentes nos ovários de 19 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, de acordo com a idade materna

OITAVO MÊS DE GESTAÇÃO	VARIÁVEIS MATERNAS															
	IDADE															
	N		2		N		4		N		6		N		8	
	Média		Desv Pad		Média		Desv Pad		Média		Desv Pad		Média		Desv Pad	
Fol. Totais	6	318051	±	146890	8	833521	±	670078	2	909695	±	818209	3	601020	±	176815
<i>p=0,29</i>																
Fol. Primordiais	6	212551	±	96074	8	580795	±	502900	2	676791	±	645069	3	405329	±	128849
<i>p=0,31</i>																
Fol. em Crescimento	6	105477	±	65785	8	252696	±	182754	2	232904	±	173139	3	195637	±	48879
<i>p=0,30</i>																
Fol. Terciários	5	250	±	421	7	171	±	189	2	105	±	4	3	58	±	48
<i>p=0,78</i>																

4.8.2 Machos

O peso e o volume dos testículos fetais foi correlacionado positivamente com a quantidade de células de Sertoli ($r=0,49$; $p=0,02$ e $r=0,84$; $p<0,0001$) (Figura 88), com o número de células de Leydig ($r=0,43$; $p=0,05$ e $r=0,83$; $p<0,0001$) (Figura 89) e a quantidade de células germinativas ($r=0,59$; $p=0,006$ e $r=0,79$; $p<0,0001$) (Figura 90).

A quantidade de folículos antrais nos ovários maternos foi correlacionado positivamente com o número de células de Sertoli ($r=0,53$ e $p=0,02$) (Figura 91) e de Leydig ($r=0,63$ e $p=0,005$) (Figura 92).

As correlações entre o peso e o revestimento de gordura na carcaça das vacas, a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, além das concentrações plasmáticas de leptina e progesterona materna com a quantidade de células de Sertoli, Leydig e germinativas nos testículos fetais estão apresentadas na Tabela 39.

A média da quantidade das células de Sertoli, Leydig e germinativas de acordo com o número de folículos antrais nos ovários das vacas, o peso de carcaça, o revestimento de gordura na carcaça e a idade materna estão nas tabelas 40 e 41.

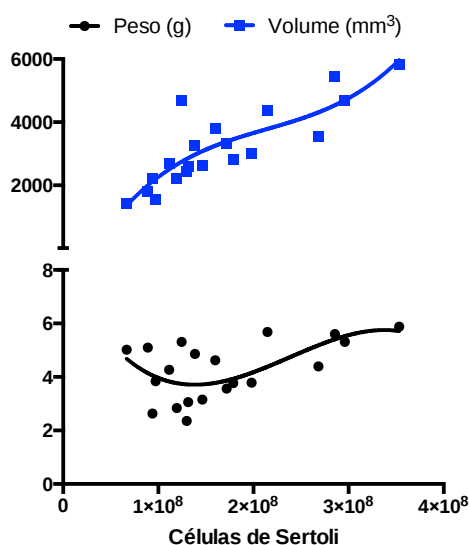


FIGURA 88- Correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o peso testicular ($r=0,49$; $p=0,03$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,38$; $y=8-7,2 \times 10^{-8}X+3,7 \times 10^{-16}X^2-5,1 \times 10^{-25}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Sertoli no testículo fetal e o volume testicular ($r=0,84$; $p<0,0001$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,74$; $y=-1585+5,8 \times 10^{-5}X-2,3 \times 10^{-13}X^2+3,6 \times 10^{-22}X^3$).

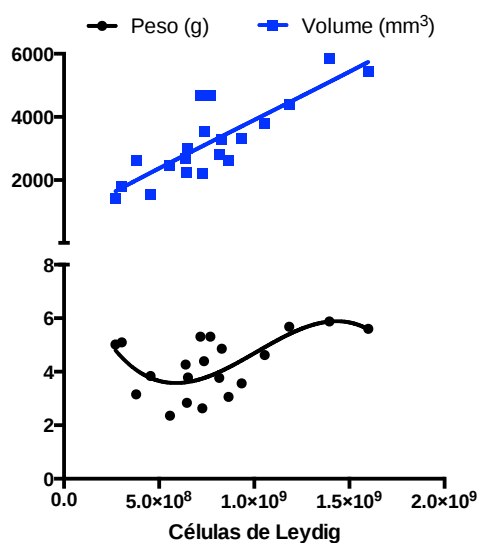


FIGURA 89- Correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o peso testicular ($r=0,43$; $p=0,05$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,43$; $y=8,5-1,9 \times 10^{-8}X+2,3 \times 10^{-17}X^2-7,7 \times 10^{-27}X^3$) e correlação entre a quantidade de células de Leydig no testículo fetal e o volume testicular ($r=0,83$; $p<0,0001$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,70$; $y=756,5+3,4 \times 10^{-6}X-3,3 \times 10^{-16}X^2+1,1 \times 10^{-25}X^3$).

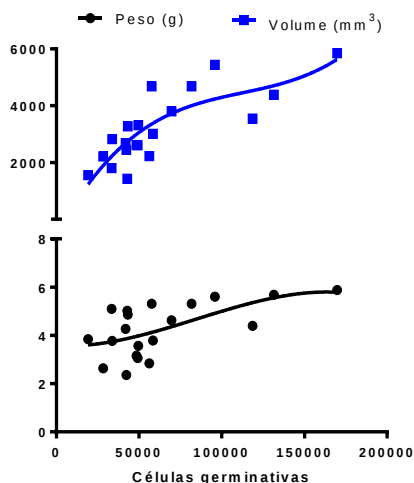


FIGURA 90- Correlação entre a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o peso testicular ($r=0,54$; $p=0,01$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,36$; $y=3,6_3,5 \times 10^{-6}X+2,9 \times 10^{-10}X^2-1,2 \times 10^{-15}X^3$) e correlação a quantidade de células germinativas no testículo fetal e o volume testicular ($r=0,83$; $p<0,0001$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem ($r^2=0,69$; $y=-554,6+0,1X-8,6 \times 10^{-7}X^2+2,5 \times 10^{-12}X^3$).

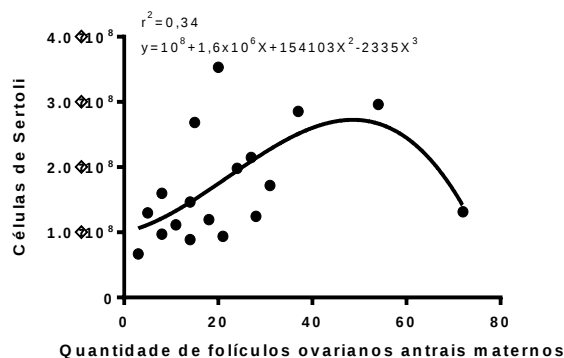


FIGURA 91- Correlação entre quantidade de folículos ovarianos antrais materna e a quantidade de células de Sertoli nos testículos ($r=0,53$; $p=0,02$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem.

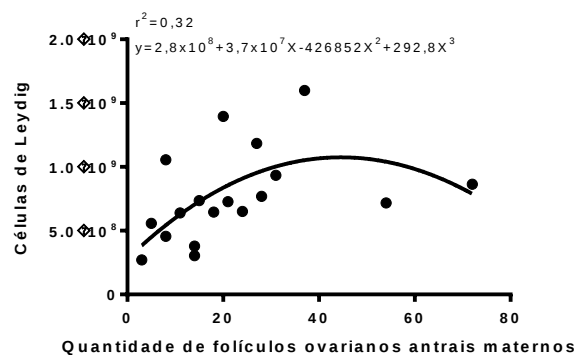


FIGURA 92- Correlação entre quantidade de folículos ovarianos antrais materna e a quantidade de células de Leydig nos testículos ($r=0,63$; $p=0,005$) de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com idade gestacional de oito meses, com curva polinomial de terceira ordem.

Tabela 39- Correlações entre os diferentes tipos de folículos nos ovários fetais com as variáveis maternas, além do peso e volume ovariano fetal de 20 fetos bovinos da raça Nelore, com oito meses de gestação

TIPO DE CÉLULA TESTICULAR	VARIÁVEIS MATERNAS					VARIÁVEIS FETAIS					
	PESO DE CARÇAÇA (kg)	IDADE (Anos)	RGC	FOLÍCULOS ANTRAIS	FOLÍCULOS OVARIANOS TOTAIS	PROGES TERONA (ng/ml)	INSULINA (ng/ml)	LEPTINA (ng/ml)	TESTOS TERONA (ng/ml)	PESO TESTICULAR (g)	VOLUME TESTICULAR (mm3)
CÉLULAS DE SERTOLI											
	r valor	-0,23	0,16	0,53	0,16	0,37	0,15	0,10	0,01	0,49	0,84
	p valor	0,32	0,51	0,02	0,49	0,11	0,62	0,71	0,96	0,03	<,0001
N	20	20	20	18	20	20	14	15	18	20	20
CÉLULAS DE LEYDIG											
	r valor	0,18	0,14	0,63	0,33	0,35	-0,24	0,18	-0,11	0,43	0,83
	p valor	0,44	0,55	0,005	0,16	0,13	0,40	0,53	0,67	0,05	<,0001
N	20	20	20	18	20	20	14	15	18	20	20
CÉLULAS GERMINATIVAS											
	r valor	0,20	0,35	0,44	0,29	0,40	-0,18	-0,19	-0,09	0,59	0,79
	p valor	0,40	0,39	0,13	0,07	0,22	0,55	0,49	0,71	0,01	<,0001
N	20	20	20	18	20	20	14	15	18	20	20

5 DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento gonadal

5.1.1 Fêmeas

De acordo com as correlações encontradas entre a população folicular ovariana total dos fetos fêmeas, com o peso e o volume ovariano dos fetos podemos constatar que a QFOF está relacionada com estas variáveis, concordando com relatos anteriores que avaliou fêmeas bovinas após o nascimento (Cushman et al., 2014) e próximos a puberdade (Murassawa et al., 2005).

Trabalhos realizados com *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* encontraram resultados semelhantes (DINIZ et al., (2005); MONTEIRO et al, (2009); TANAKA et al., (2001). Há relato de aparecimento dos folículos antrais somente a partir de 210 dias de gestação (CARAMBULA et al., (1999).

Neste trabalho, a média da população de folículos primordiais durante a gestação, em fetos de *Bos taurus indicus*, foi próxima ao descrito anteriormente por Russe (1983). A estimativa média do número de folículos no ovário dos fetos aos oito meses de gestação foi valor similar ao previamente descrito (BETTERIDGE et al., 1989), estimada entre 164.402 e 2.051.767 a quantidade de folículos por ovário, sendo que mais de 90% dessa população era representada por folículos ovarianos pré-antrais, concordando com Saumande (1991). Nos sexto mês gestacional foram encontrados valores abaixo do encontrado por Diniz et al. (2005), já nos fetos com idade maior ou igual a seis meses de gestação, os valores encontrados nos fetos Nelore são maiores do

que os reportados anteriormente (DINIZ et al., 2005; SILVA, 2009, TANAKA et al. 2001). Esta variação quantitativa provavelmente seja consequência de variação das metodologias de estimativa.

O período crítico no desenvolvimento ovariano das fêmeas é até o final da oogênese (RHIND et al., 2001), 150 dias em bovinos (RUSSE et al., 1983). Fatores como raça (CAHILL, 1979), idade, concentração hormonal (RUSSE, 1983), variáveis nutricionais, genéticas (ERICKSON, 1966) e variações individuais influenciam o número e a distribuição dos folículos ovarianos (SILVA, 2009). Tanta influência justifica a variação individual observada na população de folículos, no peso e no volume total dos ovários dos fetos dentro de cada mês de gestação.

5.1.2 Machos

O peso e o volume testicular dos fetos estavam correlacionados com a quantidade de células de Sertoli, de Leydig e germinativas no testículo fetal. Já foi descrita correlação entre o peso do testículo e a quantidade de células de Sertoli em touros Nelore (CARNEIRO Jr et al., 2001). Foi observado que touros *Bos taurus* com testículos mais pesados e com maior diâmetro possuem maior relação de espermatídes arredondadas por células de Sertoli nos túbulos seminíferos (MOURA e ERICKSON, 1997) e consequentemente maior produção espermática (BERNDTSON et al., 1987). Segundo Aguiar et al. (2006) a relação célula de Sertoli/espermátide reflete no potencial de produção espermática do animal na vida adulta.

Em humanos o número de células de Sertoli no final da gestação é de aproximadamente 260 milhões, aumentam para 1500 milhões até os 10 anos de idade e em adultos são estimados em 3700 milhões e células por indivíduo (CORTES et al., 1987). Discordando com nossos achados, há um relato de pouca diferença no número de células de Sertoli observados por campo analisado, em testículos de fetos bovinos da raça Nelore (JACOMINI et al., 2007), mas acreditamos que seja consequência da diferente metodologia empregada para estima a quantidade de células nos testículos.

Há relato em fetos bovinos de que o número de células de Leydig começa a aumentar a partir da oitava semana de gestação, se diferenciam, multiplicam e aumentam de tamanho até a 14ª semana (FRANCAVILLA et al., 1990). Em ratos, há um menor número de células de Leydig, mas com crescimento contínuo até a vida adulta (MENDES-HANDAGAMA e ARIYARATNE, 2001).

A estimativa da quantidade de células germinativas primordiais nos testículos fetais de bovinos até 5 meses foram menores do descrito anteriormente (HOCHEREAU-DE REVIERS (1995); JACOMINI et al., (2007), MATSCHKE; ERICKSON, (1969)), em bovinos, e Muller e Skakkebaek (1992) em humanos. Porém todos os trabalhos descreveram o da quantidade de células a cada mês de gestação.

Neste trabalho a maior concentração plasmática de testosterona dos fetos machos foi observada no quinto mês de gestação seguida por um decréscimo no sétimo e oitavo mês. Em humanos foi descrito uma maior produção de testosterona entre a 15ª e 18ª semana de gestação em humanos com posterior declínio (SWERDLOFF et al., 2009). Em ovinos, foi relatada

maior concentração de testosterona perto dos 70 dias da gestação (FORD; D'OCCHIO, 1989), o que está mais próximo destes resultados em fetos *Bos indicus*. O aumento da concentração de andrógenos nos machos, durante a gestação, é influenciado tanto por fontes maternas quanto do próprio feto (CONNOLLY et al., 2013).

A concentração plasmática de testosterona foi correlacionada positivamente com a quantidade de células germinativas encontrada nos túbulos seminíferos dos testículos fetais no quinto e sexto mês gestacional e negativamente com o número de células de Sertoli e Leydig nos testículos quando analisado todo o período da gestação. Sullivan et al. (2010) descreveram correlação negativa entre a concentração de testosterona dos fetos e a concentração de LH nos mesmos. Por outro lado, nossos resultados discordam com o encontrado por Rojas-Garcia et al. (2010) no qual encontraram menor número de células germinativas e maiores quantidade de células de Sertoli em ovinos submetidos a androgenização no período fetal. Connolly et al. (2013) sugerem que a esteroidogênese testicular fetal é responsiva ao LH e que um decréscimo na circulação de LH fetal pode reduzir a produção de testosterona fetal. Fetos machos submetidos a exposição de testosterona aumentaram a expressão de receptores para FSH (RECABARREN et al., 2007) nos testículos e tiveram alteração nas respostas ao GnRH (ROJAS-GARCIA et al., 2010). Portanto sugerimos que essa maior concentração plasmática de testosterona pode causar uma resposta negativa na concentração de LH e FSH e consequentemente reduzir o número de células testiculares.

5.2 Correlação das variáveis maternas com o desenvolvimento gonadal

De acordo com os resultados apresentados, as vacas ao ficarem mais velhas apresentam maior peso de carcaça e maior reserva de gordura, pode ocorrer um aumento na concentração de insulina e progesterona em função da idade, mas não houve interferência na concentração de leptina.

Ficou evidente que durante a gestação, a população folicular do ovário fetal é correlacionada positivamente com a idade, o RGC e com a concentração plasmática de leptina e progesterona materna, além de ser influenciada negativamente pelo PC, pela quantidade de folículos ovarianos totais maternos, PFOA, concentração plasmática de insulina materna. Nos machos, a quantidade de células de Sertoli, de Leydig e germinativas foi correlacionada positivamente com a idade e com a quantidade de folículos totais e antrais nos ovários maternos, porém foi correlacionada negativamente com a concentração plasmática de insulina materna.

Além das correlações, foi demonstrado que o RGC, a idade, o PC e a PFOA das vacas influenciaram a quantidade média dos diferentes estágios de folículos ovarianos encontrados em fetos fêmeas e nos tipos celulares em fetos machos durante os diferentes meses gestacionais. Isto demonstrou que a condição nutricional da vaca e o status fisiológico desta podem modificar as gônadas fetais, com influência significativa sobre a população folicular ovariana, as células de Sertoli, de Leydig e germinativas formadas.

5.2.1 Revestimento de gordura na carcaça, peso da carcaça e idade materna

Pesquisas recentes envolvendo nutrição e fertilidade de bovinos tem demonstrado a influência nutricional sobre eventos moleculares e celulares que envolvem a produção de gametas, desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária (ALMEIDA et al., 2007), desenvolvimento embrionário, crescimento, implantação do conceito (BASTOS, 2008) e desenvolvimento testicular (SULLIVAN et al., 2010).

Recentes evidências mostraram plausível a existência do efeito da nutrição materna tanto no desenvolvimento do ovário fetal (ALMEIDA et al., 2007) quanto do testículo fetal (SULLIVAN et al., 2010). A inadequada ingestão de energia e o baixo escore de condição corporal (dois em uma escala de 1 a 5) podem afetar negativamente a função reprodutiva, influenciando negativamente a prole deste animal (SALMAN; COSTA, 2006)

Segundo Borwick et al. (1997) a má nutrição materna no primeiro trimestre da gestação retardou o desenvolvimento ovariano fetal em ovelhas, já que neste período está presente o maior número de folículos ovarianos fetais (IRELAND et al., 1987) e ocorre o início da foliculogênese. Em trabalho realizado por Rae et al. (2002), foi demonstrado que ovelhas subnutridas nos primeiros 50 dias de gestação tiveram fetos fêmeas com menor massa ovariana do que aquelas submetidas a nutrição adequada. Sullivan et al. (2009) descreveram que novilhas nascidas de vacas submetidas a baixos níveis de proteína na alimentação durante o primeiro terço da gestação, obtiveram folículos com menores diâmetros e ovários com menor densidade de folículos

primordiais e primários. O número de folículos primordiais formados neste período é determinante da futura expectativa de vida reprodutiva desta fêmea (HIRSHFIELD, 1994).

Da Silva et al. (2006) demonstraram que a quantidade de folículos ovarianos em fetos fêmeas, de carneiros em final de gestação, diminuiu por ação da dieta materna, que inibiu a expressão do gene das gonadotrofinas, repercutindo em menor crescimento ovariano fetal. Mossa et al. (2009) observaram que os animais nascidos de vacas alimentadas com 60% do requerimento nutricional de manutenção, apresentaram menor número de folículos quando comparados aos nascidos das fêmeas nutridas corretamente. Isto demonstra que com a adequada nutrição materna, neste trabalho, inferido pelo escore de revestimento de gordura na carcaça, a quantidade de folículos ovarianos fetais é aumentada.

Por outro lado, em fetos machos, Sullivan et al. (2010a) demonstraram que bezerros nascidos de vacas submetidas a altos níveis de proteína no primeiro terço da gestação apresentaram testículos com menores volumes do que aqueles nascidos de vacas submetidas a baixos níveis proteicos no mesmo período gestacional. Além disto, o mesmo grupo de pesquisa descreveu correlação negativa entre a nutrição com baixos níveis proteicos e a concentração plasmática de FSH. Concordando com nossos resultados, Bielli et al. (2002) descreveram que cordeiros nascidos de ovelhas com alta nutrição energética durante a gestação apresentavam testículos mais pesados e com maiores quantidades de células de Sertoli do que aqueles nascidos de ovelhas com níveis baixos de energia na nutrição. Além disso, estudos relatam efeitos da nutrição materna na concentração de testosterona fetal (Da SILVA et al.,

2001), diâmetro nos túbulos seminíferos (KOTSAMPASI et al., 2009), resposta de LH e FSH ao GnRH (RAE et al., 2002) e volume testicular (CHASE et al., 1997).

Neste trabalho o peso da carcaça materna apresentou correlação positiva de 16% com a concentração plasmática de insulina, e também foi observada correlação negativa do PC materna com a quantidade de folículos ovarianos fetais aos seis meses de idade, assim como, com o número de folículos primordiais e em crescimento no mesmo período. Por outro lado, foi encontrada correlação positiva do PC materna com a quantidade de células germinativas nos ovários fetais no quarto mês de gestação.

Foi encontrado correlação ($p < 0,0001$) de 33% entre a idade e o peso da carcaça das vacas, sendo que os animais com oito anos de idade apresentaram maior peso de carcaça do que os animais com dois e quatro anos. Concordando com este achado, Tennant et al. (2002) encontraram um platô no peso corporal de vacas com cinco e seis anos de idade, porém consequente diminuição deste a partir dos 11 anos. Por outro lado, Choi et al. (2002) e Requist et al. (2006) encontraram animais com maiores pesos corporais aos sete e oito anos de idade.

A idade materna correlacionou-se positivamente com a QFOF dos fetos fêmeas aos cinco meses de gestação e com a quantidade de folículos em crescimento aos oito meses, tendo as vacas com oito anos de idade fetos com maior quantidade folicular. Do mesmo modo, a idade materna foi correlacionada com o número de células germinativas durante a gestação e com o número de células de Sertoli e de Leydig no quinto mês gestacional. Estes achados concordam com o descrito na literatura. Requist et al. (2006)

observaram que vacas com oito anos de idade geravam animais com maiores pesos ao nascimento. Cushman et al. (2014) encontraram correlação entre o peso ao nascimento e o peso ovariano dos neonatos de bovinos de corte e Smit et al. (2013) descreveram que suínos com baixo peso ao nascer apresentavam testículos com menores quantidades de células de Sertoli, de Leydig e germinativas, além de menores pesos testiculares.

5.2.2 Leptina, insulina e progesterona materna

Em nossos resultados a concentração de testosterona dos fetos machos não diferiu de acordo com o RGC materno, porém foi correlacionada em 48% com a concentração plasmática de leptina no quinto mês de gestação. Concordando, Alexander et al. (2010) observaram que os machos nascidos de ovelhas obesas apresentavam a concentração de testosterona maiores que os animais nascidos de ovelhas controle. Azziz (1989) descreveram que a quantidade de gordura pode alterar o armazenamento e clearance dos esteroides e Garnett et al. (2004) demonstraram que a concentração sérica de testosterona em crianças pré-púberes foram positivamente correlacionadas com a porcentagem de gordura corporal. Alexander et al. (2010) sugerem que a testosterona fetal provavelmente seja armazenada em maiores quantidades nos tecidos adiposos dos fetos machos nascidos de ovelhas obesas, do que aqueles nascidos de animais controle. Entretanto, Rae et al. (2002a) demonstraram que a concentração de andrógenos em machos ovinos era maior naqueles nascidos de ovelhas subnutridas, do que em animais controle.

Por outro lado, nos fetos fêmeas, foi encontrada correlação positiva entre a leptina materna e a população de folículos primordiais no terceiro mês gestacional, e com a população de folículos em crescimento no oitavo mês. Hipotetiza-se que essas correlações podem ocorrer pelo fato da leptina materna estar relacionada com a quantidade de energia disponível ao feto para que ocorra o início da foliculogênese e desenvolvimento testicular destes animais. O crescimento e desenvolvimento folicular das fêmeas no final da gestação, e o crescimento e desenvolvimento das células dos testículos dos machos no segundo terço da gestação podem ser dependentes da quantidade energética materna, uma vez que a expressão do gene da leptina é regulada pela disponibilidade de nutrientes no organismo (MORASH et al., 1999)

Além disto, a leptina pode influenciar positivamente e diretamente a função das gonadotrofinas, estimulando o eixo hipotálamo-hipófise-gônada exercida a nível hipotalâmico (CAPRIO et al., 2001), aumentando a secreção de LH e, em menor proporção o FSH (YU et al., 1997). Nos fetos fêmeas, os folículos em crescimento e antrais são dependentes do LH (GIMENES et al., 2008) e estes estão presentes nos ovários a partir do sexto mês da gestação. Nos machos, Thomas et al. (1994) sugerem que a secreção de testosterona é dependente de GnRH, em fetos ovinos, a partir do segundo terço da gestação. Estudos defendem que a concentração de leptina materna é um importante fator de crescimento fetal e é considerada como um sinal no status de energia da mãe (WAUTERS et al., 2000).

A energia do animal é estocada em gordura e glicogênio, e junto com a glicose permite que o organismo cresça e reproduza (CROWN et al., 2007). Entretanto, esta energia depende não somente da disponibilidade proveniente

da nutrição, mas também da quantidade consumida pelo organismo durante a gestação, o parto, a lactação e o comportamento materno. Além da leptina, a insulina é reconhecida como principal mediador de homeostase energética (SLIWOWSKA et al., 2014).

Entretanto, encontramos correlação negativa entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de folículos totais dos fetos fêmeas durante o quinto e sexto mês gestacional. Em cultura in vitro de células ovarianas, a insulina e o IGF reduzem a proliferação de células da granulosas dos folículos e diminuem a expressão de AMH (KING et al., 2013), além disso pode diminuir o desenvolvimento folicular resultando em folículos poliovulares, cistos ovarianos e menor qualidade oocitária em adultos (HISHFELD-CYTRON, et al., 2013). Hipotetizamos que como no quinto e sexto mês da gestação já existe grande quantidade de folículos secundários nos ovários fetais e com essa possível diminuição da expressão de AMH nos fetos de vacas com maior concentração plasmática de insulina, o número de folículos ovarianos total pode ser diminuído.

Da mesma forma que em fetos fêmeas, foi encontrada correlação negativa entre a concentração plasmática de insulina materna e a quantidade de células de Sertoli, de Leydig e germinativas nos testículos dos fetos machos aos sete meses. Muitos estudos demonstraram a importância da insulina no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG), Kovacs et al. (2002) relataram que níveis aumentados de insulina estimularam a secreção de GnRH in vivo e Sliwowska et al. (2014) descreveram distúrbios nos padrões de pulsos de GnRH/LH. De acordo com isso, hipotetizamos que a maior concentração plasmática de insulina materna pode alterar a secreção de GnRH no feto e

consequentemente a secreção de LH e FSH, influenciando na quantidade de células de Sertoli, de Leydig e germinativas.

Além disto, sabe-se que a concentração de insulina está aumentada nos animais obesos (ZEIDA; STULNIG, 2009) e em machos é associada ao hipogonadismo na vida adulta (DU PLESSIS et al., 2010). Neste trabalho observamos correlação de 23% entre o revestimento de gordura na carcaça materna e a concentração plasmática de insulina das vacas. Estudos demonstram que a hiperinsulinemia está associada à maior idade para a entrada da puberdade em homens e mulheres (WILSON; UMPIERREZ, 2008). Outra evidência dessa possível influência da insulina na secreção de gonadotrofinas, foi demonstrada em mulheres com a síndrome do ovário policístico (SOP), que possuíam maiores níveis de insulina (WOLFE et al., 2014) e testosterona (DUMESIC et al., 2007) e apresentaram pulsatilidade acelerada de GnRH e consequentemente altos níveis de LH (HAYES et al., 1998).

Concordando com os resultados obtidos, foi relatado que a formação folicular é regulada pelos esteroides do ovário fetal, por um mecanismo de regulação independente dos esteroides maternos (NILSSON; SKINNER, 2009). De acordo com isso, podemos supor que, até o terceiro mês de gestação, a quantidade de folículos nos ovários fetais sofre influência da progesterona materna, por esta promover um maior aporte de nichos oocitários, independentemente das gonadotrofinas. Esse maior número de nichos, pode possibilitar o aumento no número de oócitos disponíveis para a formação dos folículos primordiais no quarto mês de gestação. Porém, a partir de

aproximadamente 90 dias, a regulação da formação folicular é mediada pelo feto.

Entretanto foi encontrada correlação negativa entre a concentração plasmática de progesterona materna e a quantidade de folículos totais e em crescimento no sétimo mês de gestação. Pepling et al. (2006) encontraram inibição da formação folicular em roedores devido a alta concentração de progesterona materna e Nilsson et al. (2006) descrevem o bloqueio da formação folicular com a alta concentração de progesterona.

5.2.3 População de folículos totais e antrais maternos

Vacas com maior quantidade de folículos ovarianos totais apresentam maiores números de folículos antrais em seus ovários, sendo encontrado uma correlação de 75% entre as variáveis dos animais deste experimento. Concordando com esse resultado, Ireland et al. (2008), demonstraram que vacas com baixa contagem de folículos antrais possuem também menores números totais de folículos primordiais e pré-antrais viáveis.

Sabe-se que há correlação positiva entre a concentração plasmática de AMH e o número de folículos ovarianos antrais de vacas (IRELAND et al., 2008). Nas fêmeas, o AMH que é produzido pelas células da granulosa de folículos secundários e terciários (KEZELE et al, 2005) inibe a transição dos folículos primordiais para primários e mantém os primordiais neste estágio de desenvolvimento folicular (VISSER et al., 2005). Por outro lado, Nilsson et al., (2008) observaram maior agrupamento de oócitos em nichos e menor

formação de folículos primordiais em ovários de ratas tratadas com AMH, aos dois dias de vida. Sendo assim, hipotetizamos que ao final da gestação, as vacas com maior população folicular ovariana, e consequentemente elevada concentração plasmática de AMH, geram fetos com menor formação de folículos primordiais nos ovários, porém maior número de oócitos agrupados em nichos fazendo com que o número de folículos total do ovário seja considerado menor nessa etapa do desenvolvimento, porém este animal provavelmente apresenta maior quantidade de oócitos capazes de posteriormente formarem folículos ovarianos.

Nos machos o AMH é produzido pelas células de Sertoli (JOSSO et al., 2006) sob o controle do FSH (HIROBE et al., 1992). Na ausência do efeito inibitório do andrógeno, as concentrações de FSH aumentam, assim como as de AMH (AL-ATTAR et al., 1997) e consequentemente o número de células de Sertoli (RECABARREN et al., 2008a). Isto explica também a correlação com as células germinativas, uma vez que estas são dependentes das células de Sertoli (RECABARREN et al., 2008). Porém Recabarren et al. (2008b) encontraram que machos nascidos de ovelhas submetidas a tratamento com testosterona apresentaram um aumento na expressão de receptores de FSH nos testículos, sugerindo um novo mecanismo para explicar o aumento do AMH e FSH nestes animais.

Do mesmo modo, em experimento com ratos, Racine et al. (1999) demonstraram que o AMH inibiu a função e proliferação das células de Leydig, porém em nossos resultados observamos uma correlação positiva entre a PFOA materna e a quantidade de células de Leydig sugerindo que talvez outro mecanismo esteja agindo sobre a formação destas células. A concentração de

estrógeno materno, por exemplo, age diretamente no testículo fetal, diminuindo o número de células de Leydig e Sertoli, e o peso testicular dos fetos machos (HSEUH et al., 1978; SWEENEY et al., 2014).

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o número de folículos ovarianos dos fetos fêmeas é correlacionado positivamente com a idade, RGC e leptina materna, e negativamente pela PFOA e concentração plasmática de insulina e progesterona materna.

A quantidade de células de Sertoli, de Leydig e germinativas nos testículos dos fetos machos são correlacionados positivamente da idade, PFOA e RGC materno e negativamente com a concentração plasmática de insulina materna.

A concentração plasmática de testosterona dos fetos machos foi correlacionada positivamente com a quantidade de células germinativas e, e negativamente com a quantidade de células de Sertoli e de Leydig.

Porém devemos lembrar que existem outros fatores que influenciam nessa formação folicular e celular como raça, genética, ambiente e fatores paternos.

7 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processos: BMP 2011/15282-6; BEPE 2013/18200-6; APR 2011/50839-1 e ao

frigorífico JBS por permitir a coleta de amostras maternas e fetais para a realização deste trabalho.

8 REFERÊNCIAS

ACNB Associação dos Criadores de Nelore do Brasil. Caracterização racial. Disponível em < <http://www.nelore.org.br/Raca/Caracterizacao>>, 20 de novembro de 2013.

ADASHI, E.Y.; RESNICK, C.E.; HETRNADES, E.R.; HURWITS, A.; ROBERTS, C.T.; LEROITH, D.; ROSENFELD, R. The intraovarian IGF system. **Growth Factors in Reproduction**, Sero Symposia, p. 91-101, 1991.

AGUIAR, G.V.; ARAUJO, A.A.; MOURA, A.A.A. Desenvolvimento testicular, espermatogênese e concentrações hormonais em touros Angus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1629-1638, 2006.

AIRES, M.G.M. **Fisiologia**. 3 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008, p. 1056 – 1059.

AL-ATTAR. L.; NOE, L.K.; DUTERTRE, M.; BELVILLE, C. FOREST, M.G.; BURGOYNE, P.S.; JOSSO, N.; REY, R. Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-Mullerian hormone production in the postnatal mouse. **Journal of Clinical Investigation**, v. 100, p. 1335–1343, 1997.

ALEXANDER, B.M.; SINGH, P.; AUSTIN, K.J.; COCKRUM, R.; CAMMACK, K.M.; HESS, B.W.; MOSS, G.E.; NATHANIELSZ, P.; FORD, S.P. Effect of maternal fatness on fetal steroids and Semi-quantitative Real-Time PCR expression of receptor genes in sheep. **Animal Reproduction Science**. v.116, n. 1/2, p. 58–64 , nov, 2009.

ALMEIDA A.P.; SOUZA A.L.; MENEZES E.S.B.; ARRUDA I.J.; RONDINA D. Recentes avanços na relação entre nutrição e reprodução em ruminantes. **Nutrição Animal**, v.01, p. 1-10, 2007.

ALVAREZ, P.; SPICER, L.J.; CHASE JUNIOR, C.C.; PAYTON, M.E.; HAMILTON, T.D.; STEWART, R.E.; HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; WETTEMAN, R.P. Ovarian and endocrine characteristics during the estrous

cycle in Angus, Brahman and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal Animal Science**, v. 78, p.1291-1302, 2000.

AMANN, R. P. Sperm production rates. In: JOHNSON, A. P.; GNOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. (eds) **The Testis**, v. 1, p. 433–482, 1970.

ANUALPEC, Anuário da Pecuária Brasileira online, 2013. Disponível em : <<http://www.anualpec.com.br/>> Acesso em: 15 maio 2014.

ARAMBEPOLA, N.K.; BUNICK, D.; COOKE, P.S. Thyroid hormone and follicle stimulating hormone regulate Mullerian-inhibiting substance Messenger ribonucleic acid expression in cultured neonatal rat Sertoli cells. **Endocrinology**, v.13, p.4489-4495, 1998.

ARMSTRONG, D.G.; McEVOY, T.G.; BAXTER, G. ROBINSON, J.J.; HOGG, C.O.; WOAD, K.J.; WEBB, R. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology of Reproduction**, v.64, p.1624-1632, 2001.

ASLAN, A.R.; KOGAN, B.A.; GONDOS, B. Testicular development. In: POLIN, R.A.; FOX, W.W.; ABMANS, S.H. (editors). **Fetal and Neonatal Physiology**. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders; 2004. p. 1950-5.

AUMULLER, G.; SEITZ, J. Protein secretion and secretory processes in male accessory sex gland secretion. **International Review of Cytology**, v.121, p.127-231, 1990.

AZZIZ, R. Reproductive endocrinologic alterations in female asymptomatic obesity. **Fertility and Sterility**, v. 52, p. 703–725, 1989.

BAARENDS, W.M.; UILENBROEK, J.T.; KRAMER, P.; HOOGERBRUGGE, J.W.; VAN LEEUWEN, E.C.; THEMME, A.P.; GROOTEGOED, J.A. Anti-mullerian hormone and anti-mullerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. **Endocrinology**, v. 136, p. 4951–4962. 1995.

BASTOS M.R. **Influência da ingestão de matéria-seca e da condição corporal na produção in vivo de embriões bovinos**. 170p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Reprodução Animal). Universidade Estadual Paulista UNESP, Botucatu. 2008.

BECKERS N.G.M., MACKLON N.S., EIJKEMANS M.J.C., FAUSER B.C.J.M. Woman with regular menstrual cycles and a poor response to ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization exhibit follicular phase characteristics suggestive of ovarian aging. **Fertility and Sterility**; v. 78, n. 2, p. 291-7, 2002.

BERNDTSON, W.E.; IGBOELI G.; PARKER, W.G. The numbers of Sertoli cells in mature Holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of spermatogenesis. **Biology of Reproduction**, v.37, n.1, p.60-67, 1987.

BETTERIDGE K.J., SMITH C., STUBBINGS R.B., XU, K.P., KING W.A. Potential genetic improvement of cattle by fertilization of fetal oocytes in vitro. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 38, p. 87-98, 1989.

BIELLI, A.; PEREZ, R.; PEDRANA, G.; MILTON, J.T.; LOPEZ, A.; BLACKBERRY, M.A.; DUNCOMBE, G.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; MARTIN, G. Low maternal nutrition during pregnancy reduces the number of Sertoli cells in the newborn lamb. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 14, p. 333–337, 2002.

BOLAND, M.P.; LONERGAN P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. **Theriogenology**. v.55, p.1323-1340, 2001.

BOOCKFOR, F.R.; BARNES, M.A.; DICKEY, J.F. Effects of unilateral castration and unilateral cryptorchidism of the Holstein bull on *in vitro* Leydig cell response. **Journal of Animal Science**, v.56, p.1386-1392, 1983.

BORWICK, S.C.; RHIND, S.M.; MCMILLEN, S.R.; RACEY, P.A. Effect of undernutrition of ewes from the time of mating on foetal ovarian development in mid-gestation **Reproduction, Fertility and Development**, v. 9, p711–715, 1997.

BRINKS, J.S.; MCINERNEY, M.J.; CHENOWETH, P.J. Relationship of age of puberty in heifers to reproductive traits in young bulls. **Proceedings, Western Section, American Society of Animal**, v. 29, p. 28–30, 1978.

BURATINI JUNIOR, J.; PRICE, C.A.; VISINTIN, J.A.; BO, G.A. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**. v.54(3), p.421-431, 2000.

BURNS, D.S.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.; KNIGHT, P.G.; IRELAND, J.J. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals,

and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. **Biology Reproduction**; v.73, p.54–62, 2005.

CAHILL, L.P.; MARIANA, J.C.; MAULÉON, P. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 55, p. 27-36, 1979.

CAPRIO, M.; FABBRINI, E.; ISIDORI, A.M.; AVERSA, A.; FABBRI, A. Leptin in reproduction. **Endocrinology & Metabolism**, v. 12, n. 2, p. 65-72, 2001.

CARAMBULA, F.; GONSALVES, P.B.D.; COSTA, L.F.S.; FIGUEIREDO, J.R.; WHEELER, M.B.; NEVES, J.P.; MONDADORIL, R.G. Effects os fetal agr and method of recovery on isolation of preantral follicles from bovine ovaries. **Therigenology**, v. 52, p. 563-571, 1999.

CARDOSO, F.M. **Desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos de zebus (*Bos indicus*) da raça Nelore, do período fetal aos 36 meses de idade**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1977.

CARNEIRO JUNIOR, J.H.; RODRIGUES, G.; MOURA, A. Testicular development, peripheral concentrations of testosterone and histology of the seminiferous tubules in Nelore bulls. In: CONGRESSO DE INTEGRAÇÃO EM BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO, Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto: 2001. p.46.

CATON J.S., HESS B.W. Maternal plane of nutrition: Impacts on fetal outcomes and postnatal offspring responses In: Proceedings of 4th Grazing Livestock Nutrition Conference. **Society Animal Science**, p. 104–22, 2010. Disponível em: <http://coronasc.nmsu.edu/documents/proceedings_of_the_fourth_glnc_2010.pdf#page=112 > Acesso em: 20 maio 2014.

CHASE, J.C.C.; CHENOWETH, P.J.; LARSEN, R.E.; OLSON, T.A.; HAMMOND, A.C.; MENCHACA, M.A.; RANDEL, R.D. Growth and reproductive development from weaning through 20 months of age among breeds of bulls in subtropical Florida. **Theriogenology**, v. 47, p. 723–745, 1997.

CHOY, Y. H.; BRINKS, J. S.; BOURDON, R.M. Repeated-measure animal models to estimate genetic components of mature weight, hip height, and body condition score. **Journal Animal Science**, 80:2071–2077. 2002.

CONNOLLY, F.; RAE, M.T.; BITTNER, L.; HOGG, K.; McNEILY, DUNCAN, W.C. Excess Androgens in Utero Alters Fetal Testis Development.

Endocrinology, v.154, 2013.

CORTES, D.; MILLER, J.; SKAKKEBEK, N.E. Proliferation of Sertoli cells during development of the human testis assessed by stereological methods. *International Journal of Andrology*, v.10, n. 58, p. 596, 1987.

CROWN, A.; CLIFTON, D.K.; STEINER, R.A. Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. **Neuroendocrinology**, v. 86,, p. 175–82, 2007.

CUSHMAN, R. A.; ALLAN, M. F.; KUEHN, L. A.; SNELLING, W. M.; CUPP AND, A. S.; FREETLY H. C. Investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 1971-1980, 2009.

DA SILVA, P.; AITKEN, R.P.; RHIND, S.M.; RACEY, P.A.; WALLACE, J.M. Impact of maternal nutrition during pregnancy on pituitary gonadotrophin gene expression and ovarian development in growth-restricted and normally grown late gestation sheep fetuses. **Reproduction**, v. 123, p. 769-777, 2002.

Da SILVA, P.; AITKEN, R.P.; RHIND, S.M.; RACEY, P.A.; WALLACE, J.M. Influence of placentally mediated fetal growth restriction on the onset of puberty in male and female lambs. **Reproduction**, v. 122, p. 375–383, 2001.

DINIZ, A.G.; ESPER, C.R.; JACOMINI, J.O.; VIEIRA, R.C. Desenvolvimento morfológico dos ovários em embriões e fetos bovinos da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**; 57: 70-6, 2005.

DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K.R.; ZHU, M.; FORD, S.P.; NATHANIELSZ, P.W. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. **Journal Animal Science**, v. 88, p. 51–60, 2010.

DU, M.; ZHAO, J.X.; YAN, X.; HUANG, Y.; NICODEMUS, L.V.; YUE, W.; MCCORMICK, R.J.; ZHU, M.J. Fetal muscle development, mesenchymal multipotent cell differentiation and associated signaling pathways. *J Anim Sci* 2011; 89: 583–90.

DUMESIC, D.; ABBOTT, D.; PADMANABHAN, V. Polycystic ovary syndrome and its developmental origins. **Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 8, p. 127–141, 2007.

EARP, S. The epidermal growth factor receptor: control of synthesis and signaling function. In: SERONO SYMPOSIUM. SCHOMBERG, D.E. (ed), 1991, New York, Academic press.

ELGINDY, E.A.; EI-HAIEG, D.O.; EI-SEBAEY, A. Anti-Mullerian hormone: correlation of early follicular, ovulatory and midluteal levels with ovarian response and cycle outcome in intracytoplasmic sperm injection patients. **Fertility and Sterility**, v. 89, p.1670–1676, 2007.

ERICKSON, B.H. Development and senescence of the post-natal bovine ovary. **Journal Animal Science**; v. 25, p. 800-805, 1966.

ERICKSON, R.P.; BLECHER, S.R. Genetics of sex determination and differentiation. In: POLIN, R.A.; FOX, W.W.; ABMAN, S.H. (editors). **Fetal and Neonatal Physiology**, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders; p. 1935–1941, 2004.

EVANS A.C.O. MOSSA, F. FAIR, T., LONERGAN, P., SMITH, G.W., JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.H.; IRELAND, J.J. Variação no número de folículos ovarianos em bovinos: possíveis causas e consequências. In: XXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE), Acta. p. 227-231, 2010.

FERREIRA, F.A; BINELLI, M.; RODRIGUES, P.H.M. Interação entre nutrição protéica e aspectos reprodutivos em fêmeas bovinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.1, p.67-79, 2008.

FLORES, J.M.; SANCHEZ, M.A.; GONZALEZ, M.; PIZARRO, M. Caprine testicular hypoplasia with sexual reversion decreases expression of insulin-like growth factor II (IGF-II) mRNA in testes. **Animal Reproduction Science**, v. 52, p.279-288, 1998.

FORD, J.J.; D'OCCHIO, M.J. Differentiation of sexual behavior in cattle, sheep and swine. **Journal of Animal Science**, v. 67, p.1816–1823, 1989.

FORD, S.P.; HESS, B.W.; SCHWOPE, M.M.; NIJLAND, M.J.; GILBERT, J.S.; VONNAHME, K.A.; MEANS, W.J.; HAN, H.; NATHANIELSZ, P.W., Maternal undernutrition during early gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in male offspring. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1285–1294, 2007.

FRANCAVILLA, S.; CORDESCHI, G.; PROPRZI, G.; CONCORDIA, N.; CAPPA, F.; POZZI, V. Ultrastructure of fetal human gonad before sexual

differentiation and during early testicular and ovarian development. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 22, p. 389-400, 1990.

FROJDMAN, K.; PARANKO, J.; KUOP, T.; PELLINIEMI, L.J. Structural proteins in sexual differentiation of embryonic gonads. **International Journal of Developmental Biology**, v. 33, p. 99-103, 1989.

GARNETT, S.P.; HOGLER, W.; BLADES, B.; BAUR, L.A.; PEAT, J.; LEE, J.; COWELL, C.T. Relationship between hormones and body composition, including bone in perpubertal children. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 966–972, 2004.

GIMENES, L.V.; SÁ FILHO, M.F.; TORRES JUNIOR, J.R.; BELTRAN, M.P.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Perfil de FSH e LH na divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 1, p. 11-16, 2008.

GLANDER, H.J.; KRATZSCH, J.; WEISBRICH, C.; BIRKENMEIER, G. Insulin-like growth factor-I and alpha-macroglobulin in seminal plasma correlate with semen quality. **Human Reproduction**, v.11, p.2454-2460, 1996.

GLISTER C.; TANNETTA, D.S.; GROOME, N.P.; KNIGHT, P. Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells **Biology of Reproduction**. v. 65, p. 1020.1028, 2001.

GRIFFIN, J.E. Male reproductive function. In: GRIFFIN, J.E.; OJEDA, S.R (Eds.). **Textbook of endocrine Physiology**. New York: Oxford University Press, p.165-185, 1988.

GRUIJTERS, M.J.G.; VISSER, J.A.; DURLINGER, A.L.L.; THEMME, A.P. Anti-mullerian hormone and its role in ovarian function. **Molecular Cellular Endocrinology**. v. 211, p. 85–90, 2003.

GUERRA, A.G.; HENDRICK, S.; BARTH, A.D. Increase in average testis size of Canadian beef bulls. **Canadian Veterinary Journal**, v. 4, p. 485–490, 2013.

GUTIERREZ, C.G.; OLDHAM, J.; BRAMLEY, T.A.; GONG, J.G.; CAMPBELL, B.K.; WEBB, R. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1876.84, 1997.

HAFEZ, E.S.S. Anatomia da Reprodução Masculina. In: **Reprodução Animal**, 7º ed. São Paulo: Editora Manole, p. 3-12, 2004.

HAYES, F.J.; TAYLOR, A.E.; MARTIN, K.A.; HALL, J.E. Use of a gonadotropin-releasing hormone antagonist as a physiologic probe in polycystic ovary syndrome: assessment of neuroendocrine and androgen dynamics. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, .v. 83, p. 2343–2349, 1998.

HE, Z.X.; WU, D.Q.; SUN, Z.H.; TAN, Z.L.; QIAO, J.Y.; RAN, T.; TANG, S.X.; ZHOU, C.S.; HAN, X.F.; WANG, M.; KANG, J.H.; BEAUCHEMIN, K.A. Protein or energy restriction during late gestation alters fetal growth and visceral organ mass: An evidence of intrauterine programming in goats. **Animal Reproduction Science**, 2013. Disponível em <<<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.01.005>>> Acesso em 18 junho 2014.

HIROBE, S.; HE, W.W.; LEE, M.M.; DONAHOE, P.K. Mullerian inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in granulosa and Sertoli cells coincides with their mitotic activity. **Endocrinology**, v. 131, p. 854 – 862, 1992.

HIRSHFELD-CYTRON, J.E.; DUNCAN, F.E.; XU, M.; JOZEFIK, J.K.; SHEA, L.D.; WOODRUFF, T.K. Animal age, weight and estrus cycle stage impact the quality of in vitro grown follicles. **Human Reproduction**, v. 26, p. 2473–2485, 2011.

HIRSHFIELD, A.N. Relationship between the supply of primordial follicles and the onset of follicular growth in rats. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 421-428, 1994.

HOCHEREAU-DE REVIERS, M. T.; PERREAU, C.; PISSELET, C.; LOCATELLI, A.; BOSCH, M. Ontogenesis of somatic and germ cells in sheep fetal testis. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 103, n. 1, p. 41-46, 1995.

HSUEH, A.J.W.; DUFAU, M.L.; CATT, K.J. Direct inhibitory effect of estrogen on Leydig cell function of hypophysectomized rats. **Endocrinology**, v. 103, p. 1096 –102, 1978.

IRELAND, J.J. Control of follicular growth and development. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 34, p. 39-54, 1987.

IRELAND, J.L.H.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMME, A.P.N.; WARD, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; PEREZ, G.I.; EVANS, A.C.O.; IRELAND, J.J. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology Reproduction**, v. 79, p. 1219-25, 2008.

IRELAND, J.L.H.; ZIELAK-STECIWKO, A.E.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.; BETTEGOWDA, A.; SCHEETZ, D.; WALSH, S.; MOSSA, F.; KNIGHT, P.G.; SMITH, G.W.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O. Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. **Biology Reproduction**, v. 80, n. 5, p. 954-964, 2009.

JACOMINI, J.O.; ESPER, C.R.; DINIZ, E.G.; VIEIRA, R.C.; BELETTI, M.E. Morfogênese do testículo de embriões e fetos de vacas da raça nelore (*Bos taurus indicus*). **Brazilian Journal of Veterinarian Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 33-39, 2007.

JAYAPRAKASAN, K.; DEB, S.; BATCHA, M.; HOPKISSON, J.A.; JOHNSON, I.; CAMPBELL, B.; RAINE-FENNING, N. The cohort of antral follicles measuring 2–6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Müllerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. **Fertility and Sterility**, v. 94, n. 5, p. 1775-1881, 2010.

JIMENEZ-KRASSEL, F.; FOLGER, J.K.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; HOU, X.; DAVIS, J.S.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.; IRELAND, J.J. Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. **Biology and Reproduction**, v. 80, p. 1272-1281, 2009.

JOSSO, N.; PICARD, J.Y.; REY, R.; DI CLEMENTE, N. Testicular anti-Müllerian hormone: history, genetics, regulation and clinical applications. **Pediatric Endocrinology**, v. 3, p. 347–358, 2006.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 3004.

KAVENAAR, M.E.; MEERASAHIB, M.F.; KRAMER, P.; VAN DE LANGBORN, B.N.; DE JONG, F.H.; GROOME, N.P.; THEMME, A.P.; VISSER, J.A. Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. **Endocrinology**, v. 147, n. 7, p. 3228-3234, 2006.

KEZELE, P.R.; AGUE, J.M.; NILSSON, E.; SKINNER, M.K. Alterations in the ovarian transcriptome during primordial follicle assembly and development. **Biology Reproduction**, v. 72, p. 241–255, 2005.

KING, S.M.; MODI, D.A.; EDDIE, S.L.; BURDETTE, J.E. Insulin and insulin-like growth factor signaling increases proliferation and hyperplasia of the ovarian

surface epithelium and decreases follicular integrity through upregulation of the PI3-kinase pathway. **Journal of Ovarian Research**, v. 6, n.12, 2013

KOTA, S.K.; KOTNI, G.; JAMMULA, S.; MEHER, L.K.; KOTA, S.K.; KRISHNA, S.V.S.; MODI, K.D. **Fetal endocrinology**., 2014. Disponível em <<<http://www.ijem.in> on Thursday, March 27, 2014, IP: 200.145.224.140]>> Acesso em 17 abril 2014.

KOTSAMPASI, B.; BALASKAS, C.; PAPADOMICHELAKIS, G.; CHADIO, S.E. Reduced Sertoli cell number and altered pituitary responsiveness in male lambs undernourished in utero. **Animal Reproduction Science**, 114, 135–147. 2009.

KOVACS, P.; PARLOW, A.F.; KARKANIAS, G.B. Effect of centrally administered insulin on gonadotropin-releasing hormone neuron activity and luteinizing hormone surge in the diabetic female rat. **Neuroendocrinology**, v. 76, p. 357–365, 2002.

LA MARCA, A.; VOLPE, A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? **Clinical Endocrinology**, v. 64, n. 6, p. 603-610, 2006.

LOVELL-BADGE, R. Sex determining gene expression during embryogenesis.. **Philosophical Transactions Royal Society of London B**., v.339, n 1288, p.159-164, 1993.

MACKAY, S. Gonadal development in mammals at the cellular and molecular levels. **International Review of Cytology – A Survey of Cell Biology**, v.200, p.47-99, 2000.

MARTIN, G. B.; TJONDRONEGORO, S.; BLACKBERRY, M. A. Effects of nutrition on testicular size and the concentrations of gonadotrophins, testosterone and inhibin in plasma of mature male sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, n. 1, p. 121-128, 1994.

MARTIN-du PAN, R.C.; CAMPANA, A. Physiopathology of spermatogenic arrest. **Fertility and Sterility**, v.60, n.6, p.937-946, 1993.

MATSCHKE, G. H.; ERICKSON, B. H. Development and radioresponse of the prenatal bovine testis. **Biology of Reproduction**, v. 1, n. 2, p. 207-214, 1969.

McLAREN, A. Germ and somatic cell lineages in fine developing gonad. **Molecular Cellular Endocrinology**, v.163, p.3-9, 2000.

MEANEY, M.J.; SZYF, M.; SECKL, J.R. Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic–pituitary–adrenal function and health. **Trends in Molecular Medicine**, v. 13, p. 269–277, 2007.

MENDIS-HANDAGAMA, S.M.; ARIYARATNE, H.B. Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 660 – 671, 2001.

MONTEIRO, C.M.R.; BIAGI, M.B.; PERRI, S.H.V.; CARVALHO, R.G.; NOGUEIRA, G.P. Desenvolvimento folicular em ovários de fetos zebuínos (*Bos taurus indicus*). **Biotemas**, v. 22, p. 185-191, 2009.

MORASH, B.; LI, A.; MURPHY, P.R.; WILKINSON, M.; UR, E. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. **Endocrinology**, v. 140, p. 5995–5998, 1999.

MOSER, D.W.; BERRAND, J.K.; BENYSHEK, L.L., McCANN, M.A.; KISER, .E.. Effects of selection for scrotal circumference in Limousin bulls on reproductive and growth traits of progeny. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2052–2057. 1996.

MOSSA, F.; KENNY, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; SMITH, G.W.; BERRY, D.; BUTLER, S.; FAIR, T.; LONERGAN, P.; IRELAND, J.J.; EVANS, A.C.O. Undernutrition of heifers during the first trimester of pregnancy diminishes size of the ovarian reserve in female offspring. In: Abstracts of 42nd Annual Meeting of Society for the Study of Reproduction, Pittsburgh, U.S.A. 10983, 2009.

MOSSA, F.; CARTER, F.; WALSH, S.W.; KENNY, D.A.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.L.H.; HILDEBRANT, T.B.; LONERGAN, P.; IRELAND, J.J.; EVANS, A.C.O. Maternal Undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. **Biology of Reproduction**, v. 88, n. 92, p. 1-9, 2013.

MOURA, A.; ERICKSON, B.H. Níveis hormonais durante a pré- puberdade como indicadores do desenvolvimento testicular em touros Angus. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.432-434, 1997.

MULLER, J.; SKAKKEBAEK, N.E. Prenatal and postnatal development in testis. **Bailliere`s Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 6, p. 251-272, 1992.

MURASAWA, M.; TAKAHASHI, T.; NISHIMOTO, H.; YAMAMOTO, S.; HAMANO, S.; TETSUKA, M. Relationship between ovarian weight and follicular population in heifers. **Journal of Reproduction**, v. 51, p. 689-93, 2005.

NILSSON, E.E.; SCHINDLER, R.; SAVENKOVA, M.I.; SKINNER, M.K. Inhibitory Actions of Anti-Mullerian Hormone (AMH) on Ovarian Primordial Follicle Assembly. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, e20087, 2011.

NILSSON, E.E.; SKINNER, M.K. Progesterone regulation of primordial follicle assembly in bovine fetal ovaries. **Molecular Cellular Endocrinology**, v. 31, p.9-16 2009.

OWENS, F.N.; DUBESKI, P.; HANSON, C. F. Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3138, 1993.

PARANKO, J.; KALLAJOKI, M.; PELLINIEMI, L.J.; LEHTO, V.P.; VIRTANEN, I. Transient coexpression of cytokeratin and vimentin, **Development Biology**, v. 117, n. 1, p. 35-44, sep, 1986.

PARANKO, J. Expression of type I and III collagen during morphogenesis of fetal rat testis and ovary. **The Anatomical Record**, v. 219, p. 91-101, 1987.

PEPE, G.J.; LYNCH, T.J.; AALBRECHT, E. Regulation of Baboon Fetal Ovarian Development by Placental Estrogen: Onset of Puberty Is Delayed in Offspring Deprived of Estrogen In Utero. **Biology Reproduction** 2013; In press.

PEPLING, M.E. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. **Genesis**, v. 44, p. 622–632, 2006.

PESSUTI, O.; MEZZADRI, F.P. Atualidade e perspectivas da pecuária paranaense. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 1, Londrina. Anais... Londrina, p. 21-27, 2004.

RACINE, C.; REY, R.; FOREST, M.G.; LOUIS, F.; FERRE, A.; HUHTANIEMI, I.; JOSSO, N.; DI CLEMENTE, N. Receptors for anti-Mullerian hormone on Leydig cells are responsible for its effects on steroidogenesis and cell differentiation. **Proceedings of the National Academic Society, USA**, v. 95, p. 594 –599, 1998.

RAE, M.T.; RHIND, S.M.; KYLE, C.E.; MILLER, D.W.; BROOKS, A.N. Maternal undernutrition alters triiodothyronine concentrations and pituitary response to GnRH in fetal sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 173, p. 449–455, 2002.

RAE, M.T.; RHIND, S.M.; FOWLER, P.A.; MILLER, D.W.; KYLE, C.E.; BROOKS, A.N. Effect of maternal undernutrition on fetal testicular steroidogenesis during the CNS androgen-responsive period in male sheep fetuses. **Reproduction**, v. 124, p. 33–39, 2002a.

RAPPOLEE, D.A.; STURM, K.S.; SCHULTZ, G.A.; PEDERSON, R.A.; WERH, Z. The expression of growth factor ligands and receptors in preimplantation mouse embryos. In: HEYNER, S.; WILEY, Y. (eds), **Early Embryo Development And Paracrine Relationships**. New York, p. 11-26, 1989.

RECABARREN, S.E.; LOBOS, A.; FIGUEROA, Y.; PADMANABHAN, V.; FOSTER, D.L.; SIR- PETERMANN, T. Prenatal testosterone treatment alters LH and testosterone responsiveness to GnRH agonist in male sheep. **Biology Research**, v. 40, p. 329–338, 2007.

RECABARREN, S.E.; ROJAS-GARCIA, P.P.; RECABARREN, M.P.; et al. Prenatal testosterone excess reduces sperm count and motility. **Endocrinology**, v.149, p. 6444–6448, 2008.

RECABARREN, S.E.; SIR-PETERMANN, T.; RIOS, R.; et al. Pituitary and testicular function in sons of women with polycystic ovary syndrome from infancy to adulthood. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 93, p. 3318 –3324, 2008a.

RECABARREN, S.E.; ROJAS-GARCIA, P.; RECABARREN, M.; EINSPANIER, R.; GABLER, C.; SIR- PETERMANN, T. Testicular overexpression of FSH and TGF- β 1 receptor mRNA may contribute towards sperm abnormalities induced by prenatal testosterone excess in adult sheep. Program of the 90th Annual Meeting of The Endocrine Society, San Francisco, CA, p 351, Abstract P1-662, 2008b.

RENQUIST, B. J.; OLTJEN, J. W.; SAINZ, R. D.; CALVERT, C. C. Effects of age on body condition and production parameters of multiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.1890-1895, 2006.

RESKO, J.A.; PERKINS, A.; ROSELLI, C.E.; STELLFUG, J.N.; STORMSHAK, F.K. Sexual behavior of rams: male orientation and its endocrine correlates. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 54, p. 259–269, 1999.

RESTLE, J.; FILHO, D. C. A.; FATURI, C. Desempenho na fase de crescimento de machos bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1036-1043, 2000.

REXROAD, C.E.; CASIDA, L.E.; TYLER, W.J. Crown rump length of fetuses, in purebred Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 57, p. 346-347, 1974.

REYNOLDS, L.P.; BOROWICZ, P.P.; CATON, J.S.; VONNAHME, K.A.; LUTHER, J.S.; HAMMER, C.J.; MADDOCK CARLIN, K.R.; GRAZUL-BILSKA, A.T.; REDMER, D.A. Developmental programming: the concept, large animal models, and the key role of uteroplacental vascular development. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 13, Suppl, p. E61–E72, 2010.

REYNOLDS L.P.; CATON J.S. Role of the pre- and post-natal environment in developmental programming of health and productivity. **Molecular and Cellular Endocrinology**; v. 354, p. 54–59, 2012.

RHIND, S.M.; ERA, M.T.; BROOKS, A.N. Effects of nutrition and environmental factors on the fetal programming of the reproductive axis. **Reproduction**, v. 122, p. 205-215, 2001.

RHIND, S.M. Effect of maternal undernutrition during pregnancy on early ovarian development and subsequent follicular development in sheep fetuses. **Reproduction** , v.122, p. 915–922, 2001a.

RICO, C.; FABRE, S.; MEDIGUE, C.; DI CLEMENTE, N. CLEMENT, F.; BONToux, M.; TOUZE, J.L.; DUPONT, M.; BRIAN, E.; RENY, B.; BECKERS, J.F.; MONNIAUX, D. Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicle and can help to predict superovulatory responses in the cow. **Biology of Reproduction**, v. 80, n.1, p. 50-59, 2009.

ROBINSON J.J., SINCLAIR K.D., MCEVOY T.G. Nutritional effects on foetal growth. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 315-331, 1999.

ROBINSON, R.S.; LIDDELL, S.; WEBB, R.; HUNTER, M.G. Porcine oocyte secreted protein analysis. **Reproduction**, Abstract Series, v. 33: p.08. 2006.

ROJAS-GARCIA, P.P.; RECARBARREN, M.P.; SARABIA, L, et al. Prenatal testosterone excess alters Sertoli and germ cell number and testicular FSH receptor expression in rams. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 299, p. E998–E1005, 2010.

RUSSE I. Oogenesis in cattle and sheep. **Biblioteca Anatomica**; v. 24, p. 77-92, 1983.

SADLER, T.W. Langman Embriologia Médica. 11^a ed. Ed. Guanabara Koogan, 2010.

SALMAN, A.K.D.; COSTA, R.B. Ação hormonal da leptina em ruminantes. Embrapa, Porto Velho, RO. Documento 107, Set/2006.

SANTOS, J. E. P.; SÁ FILHO, M. F. Nutrição e reprodução em bovinos. In: 2o Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina. p 30-54. 2006.

SAUMANDE, J. La folliculogenese chez lês ruminants. **Recueil de Médecine. Vétérinaire**, v. 167, p. 205-218, 1991.

SEGERSON, E.G.; HANSEN, T.R.; LIBBY, D.W.; RANDER, R.D.; GETZ, W.R. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v. 59, p. 1026-1046, 1984.

SENEDA, M.M.; SILOTO, L.S.; MOROTTI, F.; SCHNEIDER, C.L. Fisiologia do crescimento folicular em bovinos In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 4., 2010, Londrina. **Anais...** Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2010. v. 1. p. 14-22.

SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. (Eds.). **The physiology of reproduction**. 2.ed. New York: Raven Press, v.1, p.1364-1434, 1994.

SHARPE, R.M.; MCKINNELL, C.; KIVLIN, C. et al. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells and their relevance to disorders of testis function in adulthood. **Reproduction**, v.125, n.6, p.769-784, 2003.

SILVA, K.C.F. Estado comparativo da recuperação de complexo cúmulus oócito e da população de folículos pré-antrais entre fêmeas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Área de Sanidade Animal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

SIMPSON, R.B.; CHASE JR, C.C.; SPICER, L.J.; VERNON, R.K.; HAMOND, A.C.; RAE, D.O. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular estradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.102, p.483-492, 1994.

SKINNER, M.K.; MANIKKAM, M.; GUERRERO-BOSAGNA, C. Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. **Trends in Endocrinology Metabolism**, v. 21, n. 4, p. 214–222, 2010.

SLIWOWSKA, J.H.; FERGANI, C.; GAWAŁEK, M.; SKOWRONSKA, B.; FICHNA, P.; LEHMAN, M.N. Insulin: Its role in the central control of reproduction. **Physiology and Behavior**, v. 133, p. 197–206, 2014.

SLOBODA, D.M.; HOWIE, G.J.; PLEASANTS, A.; GLUCKMAN, P.D.; VICKERS, M.H. Pre and postnatal nutritional histories influence reproductive maturation and ovarian function in the rat. **PLoS One**, v. 4, e6744, 2009.

SMIT, M.N.; SPENCER, J.D.; ALMEIDA, F.R.; PATTERSON, J.L.; CHIARINI-GARCIA, H.; DYCK, M.K.; FOXCROFT, G.R. Consequences of a low litter birth weight phenotype for postnatal lean growth performance and neonatal testicular morphology in the pig. **Animal**, v. 7, n. 10, p. 1681-1689, 2013.

SOUZA, L.W.O. Efeitos da somatotropina recombinante bovina sobre as características espermáticas, concentrações de testosterona e IGF-1 no plasma seminal de touros (*Bos taurus taurus*) submetidos à degeneração testicular. Dissertação (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2004.

SULLIVAN, T.M.; MICKEA, G.C.; GREERA, R.M.; IRVING-RODGERSB, H.F.; RODGERSB, R.J.; PERRY, V.E.A. Dietary manipulation of *Bos indicus* × heifers during gestation affects the reproductive development of their heifer calves **Reproduction, Fertility and Development**, v. 21, p. 773–784, 2009.

SULLIVAN, T.M.; MICKE, G.C.; GREER, R.M.; PERRY, V.E.A. Dietary manipulation of *Bos indicus* × heifers during gestation affects the prepubertal reproductive development of their bull calves. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 131–139, 2010.

SWEENEY, T.; L. NICOL, J. F. ROCHE, AND A. N. BROOKS. Maternal Exposure to Octylphenol Suppresses Ovine Fetal Follicle-Stimulating Hormone Secretion, Testis Size, and Sertoli Cell Number. **Endocrinology**, v. 141, p. 2667-2673, 2014.

SWERDLOFF, C W.; SINHA HIKIM, A.P. Hypothalamic–Pituitary–Gonadal Axis in Men . **Elsevier Inc.**, p.2357-2393, 2009.

TANAKA, Y.; NAKADA, K.; MORIYOSHI, M.; SAWAMUKAI, Y. Appearance and number of follicles and change in the concentration of serum FSH in female bovine fetuses. **Reproduction**, v. 121, p. 777-782, 2001.

TANEJA, M.; BOLS, P.E.; VAN DE VELDE, A.; JU, J.C.; SCHREIBER, D.; TRIPP, M.W.; LEVINE, H.; ECHELARD, Y.; RIESEN, J.; YANG, X. Developmental competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal variation and repeated gonadotrophin stimulation. **Biology of Reproduction**, v. 62, n. 1, p. 206-213, 2000.

TENNANT, C.J.; SPITZER, J.C.; BRIDGES JUNIOR, W.C.; HAMPTON, J.H. Weight necessary to change body condition scores in Angus cow. **Journal Animal Science**, v. 80, p. 2031–2035, 2002.

THOMAS, G.B.; MCNEILLY, A.S.; GIBSON, F.; BROOKS, A.N. Effects of pituitary-gonadal suppression with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on fetal gonadotrophin secretion, fetal gonadal development and maternal steroid secretion in the sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 141, p. 317–324, 1994.

TRAN, D.; MEUSY-DESSOLLE, N.; JOSSO, N. Anti-Müllerian hormone is a marker of foetal Sertoli cells. **Nature**, v. 269, p. 411-412, 1977.

VISSER, J.A.; THEMMEN, A.P. Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 234, p. 81–86, 2005.

WAUTERS M., CONSIDINE R.V., VAN GAAL L.F. Human leptin: from na adipocyte hormone to an endocrine mediator. **European Journal Endocrinology**, v. 143, p. 293–311, 2000.

WEEB, R.; CAMPBELL, B.K. Development of the dominant follicle: mechanisms of selection and maintenance of oocyte quality. In: JUENGEL, J.L.; MURRAY, J.F.; SMITH, M.F. (eds) **Reproduction in Domestic Ruminant**, 4 ed, University Press, Supplement, v. 64, p. 141-164, 2007.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, B.K.; HUNTER, M.G. Intra-ovarian regulation os follicular development and oocyte competence in farm animals. In: XII Curso Novos enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos (leite) p.67-76, 2007.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; GONG, J.G.; ASRMSTRONG, D.G. Control of follicular interactions and nutritional influences. **Journal Animal Science**, v.82, Supl, p. E63-E74, 2004.

WILSON, P.W.; UMPIERREZ, G.E. Insulin resistance and pubertal changes. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 93, p. 2472–2473, 2008.

WOLFE, A.; DIVALL, S.; WU, S. The regulation of reproductive neuroendocrine function by insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF- 1). *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2014. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.05.007> > Acesso em 24 maio 2014.

WROBEL, K-H.; SÜB, F. Identification and temporospatial distribution of bovine primordial germ cells prior to gonadal sexual differentiation. **Anatomy Embryology**, v. 197, n. 6, p. 451-467, 1998.

YU, W.H.; KIMURA, M.; WALCZEWSKA, A.; KARANTH, S.; MCCANN, S.M. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. **Proceedings of National Academic Science**, v. 94, p. 1023–1028, 1997.

ZEYDA, M.; STULNIG, T.M. Obesity, inflammation, and insulin resistance - a mini-review. **Gerontology**, v. 55, p. 379–386, 2009.