

## Notas Científicas

### Fertilidade de fêmeas Nelore após inseminação artificial em tempo fixo conforme a contagem de folículos antrais

Alexandra Soares Rodrigues<sup>(1)</sup>, Sidnei Nunes de Oliveira<sup>(1)</sup>, Marcus Vinícius Galvão Loiola<sup>(1)</sup>, Bruno Henrique de Araújo Andrade<sup>(1)</sup>, Priscila Assis Ferraz<sup>(1)</sup>, Maria Consuelo Caribé Ayres<sup>(1)</sup>, Rodrigo Freitas Bittencourt<sup>(1)</sup>, Marcos Chalhoub<sup>(1)</sup> e Antonio de Lisboa Ribeiro Filho<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Avenida Ademar de Barros, nº 500, CEP 40170-110 Salvador, BA. Email: alexandravet\_19@yahoo.com.br, sidmev@hotmail.com, vinicius\_mev@hotmail.com, bruno.henryque@gmail.com, pridferraz@gmail.com, ayresmcc@gmail.com, rfbvet@yahoo.com.br, chalhoub@ufba.br, alisboafilho@uol.com.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do número de folículos antrais sobre as taxas de concepção de fêmeas Nelore, em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Para isso, 481 fêmeas foram submetidas a um protocolo de IATF e avaliadas quanto à contagem de folículos antrais (CFA) e ao diagnóstico de gestação. Os animais foram agrupados nas categorias de CFA baixa (<34 folículos), intermediária (34–53) e alta (>53). Não houve diferença entre as taxas de concepção obtidas nas categorias de CFA em IATF com uso de gonadotrofina coriônica.

Termos para indexação: *Bos taurus indicus*, população folicular antral, taxa de concepção.

#### Fertility of Nelore females after a fixed-time artificial insemination according to antral follicle count

Abstract – The objective of this work was to determine the effect of antral follicle number (AFC) on the conception rates of Nelore females, in a fixed-time artificial insemination (FTAI) program. For that, 481 females were subjected to a FTAI protocol and evaluated for antral follicle counts (AFC) and pregnancy diagnosis. The animals were grouped into the AFC categories considered as low (<34 follicles), intermediate (34–53) and high (>53). There was no difference between the conception rates obtained for the AFC categories in FTAI protocol with use of chorionic gonatropin.

Index terms: *Bos taurus indicus*, antral follicular population, conception rate.

Nas últimas décadas, tem-se verificado uma intensa utilização de programas de sincronização do estro e da ovulação, que permitem a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e minimizam os impactos da detecção de estro e do anestro pós-parto, característicos dos programas de inseminação artificial (IA) convencional em fêmeas *Bos taurus indicus* (Meneghetti et al., 2009). Segundo Baruselli et al. (2012), a IATF tem sido apontada como a grande responsável pelo crescimento do emprego da IA no rebanho brasileiro, que chegou à marca de 10% de fêmeas em idade reprodutiva inseminadas no ano de 2011.

Apesar da evolução alcançada pelos modernos programas de IATF, os índices de concepção obtidos – entre 40 e 50% – ainda não são ideais, (Bó et al., 2003). Uma das possibilidades de se superar estes

índices é a associação dos resultados alcançados na IATF com a população folicular antral em bovinos (Baruselli et al., 2012; Evans et al., 2012). Segundo Burns et al. (2005), essa característica tem alta variabilidade e repetibilidade individual, mas alguns trabalhos sugerem que ela pode impactar direta ou indiretamente a fertilidade de bovinos (Ireland et al., 2008; Jimenez-Krassel et al., 2009).

A quantidade de folículos antrais tem efeito sobre a qualidade oocitária e embrionária, além de afetar a capacidade de síntese de progesterona e de crescimento endometrial, em fêmeas taurinas com número consistentemente baixo de folículos (Ireland et al., 2008, 2011; Jimenez-Krassel et al., 2009). Estas evidências fisiológicas de comprometimento da fertilidade foram recentemente confirmadas por Mossa et al. (2012), em programas de inseminação

artificial convencional em vacas Holandesas. Assim, a população folicular antral, avaliada por meio da contagem de folículos antrais (CFA), pode influenciar as taxas de concepção em programas de IATF (Baruselli et al., 2012; Evans et al., 2012).

Entretanto, a literatura aponta a escassez de estudos quanto ao efeito do número de folículos antrais sobre IATF em fêmeas Nelore, medido através da CFA (Evans et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do número de folículos antrais sobre as taxas de concepção de fêmeas Nelore, em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

O experimento foi realizado entre os meses de janeiro e maio de 2012, na Fazenda Conceição do Lucas, no Município de Santa Inês, região centro-sul da Bahia, a 13°17'32"S, 39°49'08"W, a 398 m de altitude. A propriedade adotava um sistema extensivo de criação de animais, em pastagem de *Urochloa decumbens*, com suplementação mineral e água ad libitum.

Foram utilizadas 481 vacas paridas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com média de 6,69±3,60 anos, índice de escore corporal de 2,69±0,39 (escala de 1 a 5) e intervalo pós-parto de 92,04±49,88 dias. Antes do início da sincronização, esses animais foram submetidos a exame clínico ginecológico e à ultrassonografia transretal por um transdutor linear Falco 100, com frequência de 6,0 MHz (Pie-Medical, Maastricht, Holanda). Foram consideradas aptas as fêmeas que apresentaram, no momento da avaliação, ausência de anormalidade no trato reprodutivo e de histórico de aborto na ficha zootécnica. Os animais foram vacinados contra brucelose, rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina e leptospirose.

As vacas foram submetidas ao protocolo de sincronização da onda de desenvolvimento folicular e da ovulação, iniciado em um dia aleatório do ciclo estral denominado dia 0 (D0), por meio da inserção do dispositivo intravaginal de liberação de progesterona P4 (Sincrogest, Ouro Fino, SP), associado à aplicação, por via intramuscular, de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol, Ouro Fino, SP). No oitavo dia, os dispositivos intravaginais de progesterona foram retirados, e as vacas foram tratadas, por via intramuscular, com 300 UI de gonadotrofina coriônica equina eCG Novormon (MSD Saúde Animal, São Paulo, SP), 500 µg de cloprostenol sódico (Sincrocio,

Ouro Fino, SP) e 1,0 mg de cipionato de estradiol ECP (Pfizer, São Paulo, SP). No décimo dia, realizou-se a IATF. As intervenções iniciaram às 8:00 h.

O monitoramento dos folículos antrais foi realizado no quarto dia (D4) do protocolo de sincronização, dia da emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular. Os ovários foram avaliados por ultrassonografia transretal, por meio de um transdutor linear Falco 100, com frequência de 8,0 MHz (Pie-Medical, Maastricht, Holanda). A contagem dos folículos antrais (CFA) com mais de 3 mm de diâmetro foi realizada, e a população folicular antral presente em ambos os ovários foi determinada. Estas avaliações foram realizadas por um único técnico. As vacas foram classificadas como: de baixa CFA, menos de 34 folículos antrais (167 animais); média CFA, entre 34 e 53 folículos (150 animais); e alta CFA, com mais de 53 folículos (164 animais).

Para as inseminações, empregou-se sêmen criopreservado, comercializado de touros da raça Nelore que se enquadravam nos padrões mínimos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA) (Henry & Neves, 1998). No momento da IA, o sêmen foi descongelado a 37°C por 30 s, e as inseminações foram efetuadas pelo mesmo técnico. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal, 55 dias após as inseminações, com um transdutor linear Falco 100, de 6,0 MHz (Pie-Medical, Maastricht, Holanda). Considerou-se como diagnóstico de gestação positivo a presença de um feto visível, com viabilidade confirmada pelo batimento cardíaco. A taxa de concepção foi calculada pela divisão do total de vacas gestantes pelo total de vacas inseminadas.

Os dados foram processados pelo "Statistical package for social science" versão 19.0 (SPSS, Chicago, EUA). As taxas de concepção, nos diferentes grupos de CFA, foram comparadas por meio de um estudo de dispersão de frequências com o teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), a 5% de probabilidade.

Não houve diferença estatística entre as taxas de concepção obtidas nas categorias de baixa, intermediária e alta CFA (Tabela 1). De forma similar, Starbuck-Clemmer et al. (2007) também não observaram variação entre as taxas de concepção e a quantidade de folículos antrais, em fêmeas taurinas de corte submetidas a programas de IA convencional.

No entanto, Cushman et al. (2009) e Mossa et al. (2012) estudaram o efeito da CFA sobre a fertilidade

de fêmeas taurinas submetidas a programas de IA convencional, e verificaram diferenças significativas entre as taxas de concepção nas categorias com baixa, intermediária e alta CFA. Segundo esses autores, as fêmeas taurinas com baixa CFA apresentaram comprometimento da qualidade oocitária e embrionária, baixos níveis de progesterona e menor crescimento endometrial, que podem reduzir direta ou indiretamente a fertilidade (Ireland et al., 2007, 2008; Jimenez-Krassel et al., 2009).

Em razão das evidências fisiológicas de que a variação no número de folículos antrais constitui um importante fator para o sucesso reprodutivo em fêmeas taurinas (Ireland et al., 2007, 2008; Jimenez-Krassel et al., 2009), acreditava-se que os resultados da presente pesquisa iriam confirmar estas mesmas evidências em animais zebuínos e mostrar taxas de concepção superiores em vacas com elevada CFA, o que não se confirmou. Portanto, é possível que animais zebuínos apresentem peculiaridades reprodutivas importantes relacionadas à população folicular antral, que os diferenciem fisiologicamente da subespécie taurina.

No presente trabalho, os animais foram tratados com gonadotrofina coriônica equina (eCG), uma substância que, comprovadamente, aumenta o crescimento folicular e os índices de fertilidade em indivíduos com características reprodutivas comprometidas (Sá Filho et al., 2010). Assim, a eCG pode ter alterado as taxas de concepção das fêmeas com baixa CFA, o que fez com que os índices de concepção se mantivessem equivalentes à categoria alta CFA. Portanto, é necessária a realização de estudos que abordem a população folicular em fêmeas zebuínas, durante protocolos de IATF, sem o emprego do eCG, assim como, em programas de IA convencional.

**Tabela 1.** Taxa de concepção de fêmeas bovinas Nelore, com distintas contagens de folículos antrais (CFA), submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo<sup>(1)</sup>.

Contagem de folículos antrais <sup>(2)</sup>	Total de animais	Taxa de concepção	
		Nº	(%)
Baixa	167	49	29,34
Intermediária	150	44	29,33
Alta	164	48	29,27
Total	481	141	29,31

<sup>(1)</sup>Médias comparadas pelo teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ), a 5% de probabilidade.

<sup>(2)</sup>Contagem do número de folículos antrais, CFA:  $\leq 34$ , baixa; entre 34 e 53 folículos, intermediária;  $\geq 53$  folículos, alta.

A contagem de folículos antrais não afeta as taxas de concepção em programas de inseminação artificial em tempo fixo, com uso gonadotrofina coriônica.

## Referências

- BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S.; SALA, R.V.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v.9, p.139-152, 2012.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTÍNEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003. DOI: 10.1016/S0378-4320(03)00097-6.
- BURNS, D.S.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; 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 of Reproduction**, v.73, p.54-62, 2005. DOI: 10.1095/biolreprod.104.036277.
- CUSHMAN, R.A.; ALLAN, M.F.; KUEHN, L.A.; SNELLING, W.M.; CUPP, A.S.; FREETLY, H.C. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. **Journal of Animal Science**, v.87, p.1971-1980, 2009. DOI: 10.2527/jas.2008-1728.
- EVANS, A.C.O.; MOSSA, F.; WALSH, S.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J. Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.31-37, 2012. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2012.02052.x.
- HENRY, M.; NEVES, J.P. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49p.
- IRELAND, J.J.; SMITH, G.W.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; MOSSA, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O.; FOLGER, J.K. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.23, p.1-14, 2011. DOI: 10.1071/RD10226.
- IRELAND, J.J.; WARD, F.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human Reproduction**, v.22, p.1687-1695, 2007. DOI: 10.1093/humrep/dem071.
- IRELAND, J.L.H.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; THEMME, A.P.N.; WARD, F.; LONERGAN, P.G.; PEREZ,

W.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 of Reproduction**, v.79, p.1219-1225, 2008. DOI: 10.1095/biolreprod.108.071670.

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 of Reproduction**, v.80, p.1272-1281, 2009. DOI: 10.1095/biolreprod.108.075093.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179-189, 2009. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.02.010.

MOSSA, F.; WALSH, S.W.; BUTLER, S.T.; BERRY, D.P.; CARTER, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J.;

EVANS, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles  $\geq 3$  mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2355-2361, 2012. DOI: 10.3168/jds.2011-4325.

SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; SILVA, R.C.P.; RODRIGUES, C.A.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p.651-658, 2010. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.004.

STARBUCK-CLEMMER, M.J.; HERNANDEZ-FONSECA, H.; AHMAD, N.; SEIDEL, G.; INSKEE, E.K. Association of fertility with numbers of antral follicles within a follicular wave during the oestrous cycle in beef cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, p.337-342, 2007. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2006.00786.x.

---

Recebido em 3 de abril de 2013 e aprovado em 17 de junho de 2013