

## Resposta superovulatória e viabilidade de embriões de doadoras Nelore submetidas a pré-tratamento com Somatotropina Recombinante Bovina (rbST)

*Superovulatory response and embryo viability of Nelore donors undergo the pre-treatment with Bovine Somatotropin Recombinant (rbST)*

VASCONCELOS, Livia Vieira<sup>1</sup>; PEREIRA, Danilo Francisco Campos<sup>1</sup>; RODRIGUES, Alexandra Soares<sup>1</sup>; CHALHOUB, Marcos<sup>1</sup>; LOIOLA, Marcus Vinicius Galvão<sup>1</sup>; FERRAZ, Priscila Assis<sup>1</sup>; ANDRADE, Bruno Henrique Araújo<sup>1</sup>; RIBEIRO FILHO, Antonio de Lisboa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Patologia e Clínicas, Salvador, Bahia, Brasil.

\*Email para correspondência: [alisboafilho@uol.com.br](mailto:alisboafilho@uol.com.br)

### RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a influência da associação de duas doses contínuas da Somatotropina Recombinante Bovina (rbST) a um protocolo de superovulação sobre a quantidade e a qualidade dos embriões produzidos, além da taxa de gestação de embriões provenientes de doadoras tratadas com a rbST. Foram usadas seis doadoras distribuídas em três tratamentos experimentais. O primeiro, tratamento I (TI), recebeu uma dose de 500mg de rbST no dia 0 do protocolo de sincronização da onda folicular; o segundo, tratamento II (TII), recebeu duas doses de 500mg rbST, a primeira dose 14 dias antes do início do protocolo e a outra no dia do início do protocolo e o terceiro, tratamento zero (T0), serviu de controle. As médias do número de estruturas colhidas, embriões viáveis, taxa de viabilidade, estágio de desenvolvimento e qualidade embrionária não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. As taxas de gestação das receptoras foram: TI=55,0% (22/40), TII=60,0% (27/45) e T0=34,4% (11/32). Houve diferença significativa entre o T0 e TII. Conclui-se que a rbST melhorou as taxas de gestação de embriões provenientes de doadoras tratadas com rbST 14 dias antes do início do protocolo e no dia do início do tratamento.

**Palavras-chave:** *Bos indicus*, reprodução animal, superovulação, taxa de gestação

### SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate the association of two continuous doses of Recombinant Bovine Somatotropin (rbST), in a protocol of superovulation on the quantity and quality of embryos produced and to evaluate the pregnancy rate of embryos from donors treated with the rbST. Six donors were used divided into three experimental treatments. The first, treatment I (TI), received a dose of 500mg of rbST on day 0 of the protocol of synchronization of follicular wave; the second, treatment II (TII), received two doses of 500mg rbST, the first dose 14 days before the start of the protocol and the other on the start of the protocol and the third, treatment zero (T0), served as control. The means number of structures collected, viable embryos, embryo viability rate, stage of development and embryo quality did not differ significantly between treatments ( $P>0.05$ ). The pregnancy rates of recipients were: TI = 55,0% (22/40), TII= 60,0% (27/45) and T0 = 34.4% (11/32). There were significant difference between T0 and TII. It is concluded that the rbST improved the pregnancy rate of embryos from donors treated with rbST 14 days before the start of the protocol and the day of starting treatment.

**Keywords:** animal reproduction, *Bos indicus*, pregnancy rate, superovulation

## INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira vive uma situação peculiar, cuja a atividade expande-se a olhos vistos, com o crescimento progressivo do rebanho e aprimoramento genético e tecnológico das unidades de produção (POLAQUINI et al., 2006). Entretanto, os baixos preços do produto têm impulsionado o pecuarista a buscar o uso de biotecnologias para melhorar a produção e aumentar a rentabilidade (BRANDÃO et al., 2007), dentre as quais destaca-se a superestimulação ovariana seguida da transferência de embriões (VIANA & CARMARGO, 2007).

Apesar de a transferência de embriões ser empregada há mais de 30 anos e muitas pesquisas já terem abordado o tema, um dos maiores entraves ainda diz respeito à variabilidade na resposta superovulatória e conseqüentemente, a baixa quantidade de embriões obtidos por meio de colheita, o que pode estar ligado a falhas ocorridas durante o processo de superovulação (HASLER et al., 2003; NAGANO et al., 2004; NEVES et al., 2005; MORAES JÚNIOR et al., 2008). Dessa forma, tem-se estudado técnicas que favoreçam o recrutamento folicular com intuito de melhorar subsequentemente a quantidade e qualidade das estruturas transferíveis (PAVLOK et al., 1996; ALEIXO et al., 2005). Ressalta-se que a hormonioterapia tem sido de grande ajuda por evidenciar o uso de hormônios que estão ligados à atividade ovariana, dentre estes, os hormônios gonadotróficos e a Somatotropina Recombinante Bovina (rbST) (BURATINI et al., 2000; 2005; SHIMIZU et al., 2008).

A rbST tem sido intensamente estudada por ser considerada uma substância que acarreta o aumento de receptores para o fator de crescimento semelhante à

insulina (IGF-1), o que favorece o crescimento folicular ovariano (FONSECA et al., 2001; KOZICKI et al., 2005), além de levar à potencialização e aumento da sensibilidade ovariana as gonadotrofinas (GONG et al., 1996; GILCHRIST, 2008).

A observação do sinergismo entre as gonadotrofinas e a rbST levou os pesquisadores a investigarem a associação destas, com foco no aumento da resposta superovulatória. Entretanto, sabe-se que a meia vida da rbST é, em média, 14 dias e não são encontrados estudos que façam uso de duas doses em protocolo de superovulação (BORGES et al., 2001). Desta forma, objetivou-se avaliar a influência da associação de duas doses contínuas da rbST ao protocolo de superovulação sobre a quantidade e a qualidade dos embriões produzidos, além da taxa de gestação de embriões provenientes de doadoras tratadas com a rbST.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no primeiro semestre de 2008 no estado da Bahia, em uma propriedade localizada na região da Chapada Diamantina. Foram usadas seis doadoras da raça Nelore, PO, não lactantes e com Escore de Condição Corporal (ECC) médio, de 3,5 numa escala de 1 a 5. Todas as doadoras foram submetidas a exame ginecológico e mostravam-se saudáveis e aptas à reprodução. Os animais eram mantidos a pasto de *Brachiária brizanta* com acesso a sal mineral e água *ad libitum*.

As vacas foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos e submetidas ao desafio para superovular, por três vezes, cada uma, com intervalo mínimo de 60 dias entre eles (Tabela 1).

O tratamento I recebeu uma dose de 500mg de rbST, por via subcutânea (Boostin, Shering-Plough, Brasil) no dia 0 (D0) do protocolo para sincronização da onda folicular, concomitante com a colocação do dispositivo intravaginal de progesterona e aplicação de Benzoato de Estradiol; o tratamento II recebeu duas doses de 500mg de rbST, a primeira 14 dias antes do início do protocolo de emergência da onda folicular e a segunda no dia do início do protocolo, e o tratamento zero foi o controle.

Para realização do experimento em estágio aleatório do ciclo estral, no dia denominado como dia 0, todas as doadoras tiveram a onda folicular sincronizada por um dispositivo intravaginal de progesterona (DIB, Shering Plough, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de

Estradiol, i.m. (Gonadiol, Shering Plough, São Paulo, Brasil). A superestimulação ovariana foi realizada com 250 UI de FSH de origem suína (Pluset, Hertape-Calier, São Paulo, Brasil) em oito doses decrescentes, i.m. de 12 em 12 horas, a partir do dia 4. No dia 6 pela manhã, administrou-se 500µg de Cloprostenol, i.m. (Ciosin, Shering Plough, São Paulo, Brasil). Os dispositivos foram retirados no dia 7, 24 horas após a aplicação do Cloprostenol. As ovulações foram induzidas com administração de 100µg de Acetato de Fertirelina, i.m. (Fertigen, Shering Plough, São Paulo, Brasil) realizadas no dia 8 pela manhã. As inseminações foram feitas em tempo fixo 12 e 24 horas após a indução das ovulações, utilizou-se sêmen criopreservado, comercial.

Tabela 1. Distribuição das fêmeas nos tratamentos, com intervalos de superovulações de 60 dias

Tratamento	1ª SOV	2ª SOV	3ª SOV
TI	Vaca A	Vaca C	Vaca E
	Vaca B	Vaca D	Vaca F
TII	Vaca C	Vaca E	Vaca A
	Vaca D	Vaca F	Vaca B
T0	Vaca E	Vaca A	Vaca C
	Vaca F	Vaca B	Vaca D

SOV = desafio para superovular, TI = tratamento I, TII= tratamento II, T0= tratamento zero.

As colheitas de embriões foram efetuadas de 6,5 dias a 7,0 dias após a primeira inseminação artificial. Anteriormente a cada colheita, foi procedida a limpeza e assepsia da região perineal das doadoras com água e álcool a 70,0%, respectivamente. Também foi realizada a anestesia epidural, com o objetivo de diminuir o peristaltismo e desconforto dos animais durante o procedimento. A recuperação dos

embriões foi realizada através da técnica não cirúrgica por meio da lavagem do útero com DPBS (Embriocare, Cultilab, Campinas, Brasil) aquecido a 37 °C. Imediatamente após as colheitas os embriões foram transferidos para a solução de manutenção e cultura contendo 0,4% de BSA (Embriocare Solução de Manutenção, Cultilab, Campinas, Brasil). Logo após, foram classificados conforme o estágio de

desenvolvimento e qualidade de acordo com os padrões adotados pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (STRINGFELLOW & SEIDEL, 1999). Apenas aqueles classificados em estágio de 4 a 7, isto é, mórula, blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido e qualificados entre 1 a 3, excelente ou bom, regular e pobre, nessa ordem, foram envasados em palhetas de 0,25mL e transferidos.

A preparação das receptoras para inovulação começou no dia 0, quando as mesmas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (DIB, Shering Plough, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol, i.m. (Gonadiol, Shering Plough, São Paulo, Brasil). No dia 5 foram tratadas com 300 UI de ECG, i.m. (Novormon, Shering Plough, São Paulo, Brasil) e 500µg de Cloprostenol, i.m. (Ciosin, Shering Plough, São Paulo, Brasil). No dia 8 os dispositivos intravaginais foram retirados e no dia 9 os animais receberam 1 mg de Benzoato de Estradiol, i.m. (Gonadiol, Shering Plough, São Paulo, Brasil).

No dia da transferência os ovários das receptoras foram palpados por via retal e examinados por ultrassonografia. Utilizou-se um aparelho de ultrassom Pie - Medical com transdutor linear de 5 MHz para se observar ou não a presença de corpo lúteo. Receptoras que não apresentavam tecido lúteo ou um corpo lúteo com pelo menos 13mm foram descartadas. Anteriormente a cada inovulação, os mesmos procedimentos referentes à limpeza, assepsia e anestesia realizados nas doadoras foram feitos nas receptoras.

Os embriões foram transferidos a fresco no 17º dia do protocolo de sincronização, por meio da técnica não cirúrgica, imediatamente após serem classificados e envasados.

O diagnóstico de gestação foi realizado aos 35 dias pós inovulação por meio de ultrassonografia transretal, para a qual utilizou-se um aparelho de ultrassom Pie-Medical com transdutor linear de 5,0 MHz.

Os três tratamentos foram comparados, o que tomou-se por base um delineamento inteiramente casualizado e os animais considerados números de repetições dentro de cada tratamento. Foram confrontadas as variáveis: número de estruturas, número de embriões viáveis, taxa de viabilidade embrionária, estágio de desenvolvimento embrionário, qualidade dos embriões e tamanho do corpo lúteo das receptoras nos três tratamentos. Para se comparar a taxa de gestação entre os tratamentos, procedeu-se o estudo de dispersão de frequências.

Para as análises estatísticas foi empregado o pacote *Statistical Analysis System* (SAS, 1996). Para tanto, realizou-se a seguinte sequência de análises:

A consistência dos dados e a análise descritiva da média e desvio padrão das características de interesse ao estudo foram realizadas por meio do PROC MEANS.

As variáveis: número de estruturas, número de embriões viáveis, taxa de viabilidade embrionária, estágio de desenvolvimento embrionário, qualidade dos embriões e tamanho do corpo lúteo das receptoras, foram comparadas mediante o emprego do PROC GLM, e usou-se o teste de *Student - Newman - Keuls* (SNK).

A variável taxa de gestação teve suas tabelas de distribuição e estudo de dispersão de frequências elaboradas pelo PROC FREQ e para tanto, se usou o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos em relação às médias do número de estruturas colhidas, embriões viáveis e taxa de

viabilidade embrionária (Tabela 2). As médias do tamanho do corpo lúteo das receptoras, do estágio de desenvolvimento e qualidade embrionária também não diferiram entre os tratamentos,  $P>0,05$  (Tabela 3).

Tabela 2. Médias do número de estruturas e embriões viáveis colhidos e da taxa de viabilidade embrionária nos três tratamentos

Tratamento	Nº de Coletas	Nº de estruturas	Nº de embriões viáveis	Taxa de Viabilidade embrionária
		Média ± (S)	Média ± (S)	Média ± (S)
TI	6	10,50 ± 5,89	6,67 ± 5,04	0,62 ± 0,16
TII	6	13,67 ± 6,98	7,50 ± 4,89	0,58 ± 0,18
T0	6	11,50 ± 6,35	5,33 ± 3,01	0,57 ± 0,34
Total	18	11,88 ± 6,18	6,5 ± 4,24	0,59 ± 0,23

TI = tratamento I, TII= tratamento II, T0= tratamento zero.

Tabela 3. Média do tamanho do corpo lúteo (TAMCL) das receptoras, do estágio de desenvolvimento embrionário (ESTEMB) e da qualidade dos embriões (QUALEMB) inovulados nos três tratamentos

Tratamento	Nº de animais	TAMCL (1-4) <sup>a</sup>	ESTEMB (1-8) <sup>b</sup>	QUALEMB (1-4) <sup>c</sup>
		Média ± (S)	Média ± (S)	Média ± (S)
TI	40	2,60 ± 0,84	4,38 ± 0,63	1,45 ± 0,68
TII	45	2,69 ± 0,85	4,49 ± 0,89	1,51 ± 0,69
T0	32	2,56 ± 0,80	4,53 ± 0,95	1,47 ± 0,72
Total	117	2,62 ± 0,83	4,46 ± 0,83	1,48 ± 0,69

TI = tratamento I, TII= tratamento II, T0= tratamento zero.

<sup>a</sup>1. Corpo lúteo pequeno, não evidente; 2. Corpo lúteo médio, evidentes; 3. Corpo lúteo grande, bastante evidente.

<sup>b</sup>1. Não fecundado; 2. Duas a 12 células; 3. Mórula inicial; 4. Mórula; 5. Blastocisto inicial; 6. Blastocisto; 7. Blastocisto expandido; 8. Blastocisto eclodido.

<sup>c</sup>1. Excelente/Bom; 2. Regular; 3. Pobre; 4. Morto/Degenerado.

Alguns trabalhos registram que a rbST age no ovário (GONG et al., 1993; GONG et al., 1996), de forma que aumentou o número de folículos recrutados com diâmetro entre 2mm e

5mm (GONG et al., 1996; BURATINI et al., 2000), estimulou o crescimento e desenvolvimento folicular (WEBB et al., 2007; BURATINI et al., 2000) e aumentou a sensibilidade das células

foliculares ao LH e FSH (CHASE et al., 1998). A capacidade do tratamento com a rbST em aumentar o número de folículos ovarianos antrais e estruturas recuperadas tem sido descrita por diversos pesquisadores (GONG et al., 1993; 1996; BURATINI et al., 2000).

Neste experimento, independente do tratamento, a administração da rbST não afetou o número total de estruturas recuperadas nem o número de embriões viáveis (Tabela 2), o que é um forte indício de que a rbST não alterou a quantidade de folículos ovulados. Divergiu-se dos relatos de Gong et al. (1993; 1996) e Nagano et al. (2004), que sugeriram que a rbST aumentaria o recrutamento folicular e a quantidade de estruturas recuperadas. Esses achados podem ser explicados pelo fato de o RNA mensageiro para o receptor de rbST já ter sido identificado nas células do *cumulus* e da granulosa de oócitos bovinos. Por outro lado, Moreira et al. (2002) descreveram que a rbST diminuiu o número de oócitos não fecundados por estimular a maturação dos oócitos, e também incrementou a taxa de clivagem dos presumíveis zigotos.

Kozicki et al. (2005) reportaram que é improvável a ação direta da rbST sobre o desenvolvimento folicular devido a uma insignificante expressão de receptores, tanto para rbST quanto para o RNA mensageiro que a codifica em folículos bovinos e evidencia a importância do IGF-1 para fisiologia ovariana.

Estudos realizados por Buratini et al. (2000), concluíram que a injeção de rbST aplicada dois dias após a ovulação resultou em incremento nas concentrações plasmáticas de IGF-I e aumento de 36,0% no número de folículos menores que 3mm, quando comparada ao controle que recebeu apenas solução salina. Esses achados

foram posteriormente confirmados por Nagano et al. (2004), que chegaram à conclusão de que a rbST aumentou o número total de embriões recuperados. Esses autores justificaram o aumento pelo fato da IGF-I agir na maturação do oócito por meio do efeito direto ou pela estimulação das células da granulosa, o que acelerou o desenvolvimento embrionário e retardou o processo de atresia folicular.

Os resultados obtidos neste experimento corroboram os de Borges et al. (2001) que, em um tratamento prévio de novilhas holandesa-zebu, com dose única de 500 mg de rbST no terceiro dia do ciclo estral não observaram modificação na resposta superovulatória, no que se refere ao número e à viabilidade das estruturas colhidas no sétimo ou oitavo dia após a inseminação artificial. Os resultados deste estudo estão de acordo também às pesquisas de Moraes Junior et al. (2008), os quais não observaram melhoria da resposta superovulatória ao usarem a rbST em vacas Nelore no dia 0 do protocolo de superovulação.

Pavlok et al. (1996) realizaram experimentos *in vitro*, e sugeriram que a falta de efeito significativo da rbST sobre o número de folículos foi em decorrência do tratamento ter sido realizado em um dia inapropriado do ciclo (dia 0) devido ao curto espaço de tempo entre a estimulação e o isolamento dos folículos, o que impediu a ação do hormônio. Gong et al. (1993) usaram aplicação única de rbST no dia 7 do ciclo estral e conseguiram um aumento significativo do número de estruturas colhidas e na qualidade embrionária. No presente trabalho foi realizada uma aplicação (TI) e duas aplicações da rbST (TII) e não foi encontrada diferença entre os tratamentos. Não se observou efeito da rbST sobre a quantidade e qualidade embrionária.

Por outro lado, Lucy et al. (1995) e Moreira et al. (2002), reportaram aumento na taxa de fecundação e melhoria na qualidade dos embriões, o que faz se atribuir os resultados ao efeito da rbST em aumentar as concentrações de IGF-I. Gong et al. (1993; 1996), relataram que o uso de rbST aumentou o número total de estruturas colhidas e de embriões viáveis. Também, Nagano et al. (2004) descreveram que a rbST afetou significativamente o desenvolvimento embrionário em vacas superovuladas com aumento na proporção de mórula e blastocistos, apesar da diminuição no número de blastocistos iniciais. Em estudos realizados *in vitro* com embriões bovinos foi observado que a adição de GH e IGF-I ao meio de cultivo estimulou a proporção de ovócitos, que se desenvolveu ao estágio de blastocisto, além de acelerar a taxa de desenvolvimento embrionário (MOREIRA et al., 2002; RAMOS et al., 2007).

Em relação às taxas de gestação, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o T0 e o TII. Em adição, apesar de não ter ocorrido diferença estatística entre o T0 e o TI, observa-se tendência de aumento de gestação no TI (Tabela 4).

Tabela 4. Taxa de gestação das receptoras nos três tratamentos

Tratamento	Nº de animais	Taxa de Gestação
		Nº (%)
TI	40	22 (55,00) <sup>ab</sup>
TII	45	27 (60,00) <sup>a</sup>
T0	32	11 (34,38) <sup>b</sup>
Total	117	60 (51,28)

TI = tratamento I, TII=tratamento II, T0=tratamento zero.

Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de  $\chi^2$ ; TI x TII,  $P=0,641$ . TI x T0,  $P=0,081$ . TII x T0,  $P=0,027$ .

O hormônio do crescimento e o IGF parecem favorecer a sobrevivência embrionária, uma vez que, embriões expostos a choque térmico, quando cultivados em meio enriquecido com IGF-I, demonstraram maior potencial de sobrevivência no período de pré-implantação (JOUSAN & HAUSEN, 2004), o que indica que no embrião estes fatores estimulariam a proliferação celular (HERRLER et al., 1994; YASEEN et al., 2001; MOREIRA et al., 2002; JOUSAN & HAUSEN, 2004) e aumentaria a taxa de produção embrionária *in vitro* (HERRLER et al., 1994; YASEEN et al., 2001; JOUSAN & HAUSEN, 2004). Mecanismos semelhantes aos acima relatados também poderiam explicar os resultados encontrados no presente trabalho, onde apesar de não ter ocorrido nenhuma alteração perceptível no embrião, àqueles oriundos do tratamento II demonstraram maior potencial de sobrevivência.

Ginther et al. (2001) afirmaram que somente folículos acima de 9,0 mm de diâmetro expressam RNAm para IGF-I. Assim, neste experimento, talvez o IGF-I em resposta a rbST não tenha tido a capacidade de melhorar o recrutamento folicular e a inibição da atresia, porém conseguiu atuar de forma positiva em folículo maior, o que melhorou a maturação e assim deu-se origem a um embrião com potencial de desenvolvimento superior.

Outros fatores, como a expressão gênica, não avaliada neste trabalho, podem ainda estar envolvidos nos resultados de gestação. A expressão de genes envolvidos na maturação ovocitária estimulam o aumento das concentrações de RNAm para IGF-II, IGF-RII e IGF-RI. Após a maturação, as concentrações desses IGFs diminuíram gradualmente até ocorrer a ativação do genoma embrionário no estágio de 8 a

16 células. Após isso, as concentrações de RNAm para IGF-II, IGF-RII e IGF-RI aumentaram até o estágio de blastocisto eclodido. Esse aumento pode indicar um importante papel dos fatores de crescimento da família IGF no alongamento do embrião (YASEEN et al., 2001). Desse modo, é possível inferir que o embrião demonstraria um alto potencial de responsividade ao IGF-I, o que estaria de acordo com os resultados deste experimento, no qual, as taxas de gestação foram influenciadas por algum fator não ligado a características visíveis no embrião.

Fabian et al. (2004) testaram o efeito inibitório de apoptose do IGF-I quando cultivaram embriões de ratos na presença desse fator de crescimento. Os embriões haviam sido induzidos a apoptose com Actinomicina D e Anfotericina, dois conhecidos indutores da morte celular, e o IGF-I mostrou-se benéfico na redução do índice de morte celular tanto em embriões tratados, como em embriões que não tinham sido induzidos a apoptose. O efeito inibitório do IGF-I ou da insulina na inibição da apoptose foi descrito em embriões de coelho, que tiveram morte celular induzida pela radiação ultravioleta (HERRLER et al., 1994). No presente estudo, embriões oriundos de um ambiente exposto por mais tempo aos efeitos da rbST demonstraram um maior potencial de sobrevivência, o que talvez possa indicar que esses embriões sejam mais “resistentes” às manipulações sofridas durante a colheita e transferência. Conclui-se que a rbST não foi capaz de influenciar o número total de estruturas recuperadas, nem o número de embriões viáveis. Também não influenciou as médias de estágio de desenvolvimento e qualidade dos embriões recuperados. Porém, contribuiu positivamente, para as taxas de gestação de embriões

provenientes de doadoras tratadas 14 dias antes do início do protocolo para superovular e no dia do início do tratamento superovulatório, o que indicou que os embriões apresentaram maior potencial para sobrevivência.

## AGRADECIMENTOS

*Agradecemos à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro em forma de bolsa de estudo e à Empresa Shering Plough Brasi, em especial a Daniela Araújo Coutinho pela colaboração na doação dos protocolos de superovulação das doadoras, sincronização das receptoras e da Somatotropina Recombinante Bovina.*

## REFERÊNCIAS

- ALEIXO, M.A.; KOZICKI, L.E.; WEISS, R.R.; SEGUI, M.S.; PERCY JÚNIOR, R.A Somatotropina Recombinante Bovina (bST) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.19-27, 2005.
- BORGES, A.M.; TORRES, C.A.; RUAS, J.R.M.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CARVALHO, G.R. Resposta superovulatória de novilhas mestiças holandesa-zebu tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1439-1444, 2001.
- BRANDÃO, F.T.; FERREIRA JÚNIOR, J.C.; BRICHI, L.O.; MIRANDA, I.T.P. Exportação da Carne Bovina Nacional: Desafios que o Setor Enfrentará nos Próximos Anos Frente às Novas Exigências do Mercado Internacional. **Maringá Management: Revista de Ciências Empresariais**, v.4, n.2, p.7-14, 2007.

BURATINI, J; CASTILHO, A.C.S.; TEIXEIRA, A.B; COSTA, I.B.; PINTO, M.G.L.; GIOMETTI, I.C.; GLAPINSK, V.F.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C.M.; PRICE, C.A. Avanços no entendimento da fisiologia do desenvolvimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.55-68, 2005.

BURATINI, J; PRICE, C.A; VISITINI, J.A; BÓ, 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, n.3, p.421-431, 2000.

CHASE, J.J.; KIRBY, C.J.; HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; LUCY, M.C. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. **Journal of Animal Science**, v.76, p.212-219, 1998.

FABIAN, D.; IL'KOVÁ, G.; REHÁK, P.; CZIKKOVÁ, S.; BARAN, V.; KOPPEL, J. Inhibitory effect of IGF-I on induced apoptosis in mouse preimplantation embryos cultured *in vitro*. **Theriogenology**, v.61, p.745-755, 2004.

FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; PINTO NETO, A.; PALHARES, M.S.; RUAS, J.R.M. Taxa de gestação de novilhas receptoras submetidas à administração de rBST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.4, p.1-8, 2001.

GINTHER, O.J; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v.64, p.197-205, 2001.

GILCHRIST, R.B. Interações oócito-células do cumulus regulando a qualidade do oócito. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, p.257-278, 2008.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; WEBB, R. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, p.611-622, 1996.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; WILMUT, I.; WEBB, R. Effect of recombinant bovine somatotropin, on the superovulatory response to pregnant serum gonadotropin in heifers. **Biology of Reproduction**, v.47, p.1141-1149, 1993.

HASLER, J.F.; BILBY, C.R.; COLLIER, R.J.; DENHAM, S.C.; LUCY, M.C. Effect of recombinant bovine somatotropin on superovulatory response and recipient pregnancy rates in a commercial embryo transfer program. **Theriogenology**, v.59, p.1919-1928, 2003.

HERRLER, A.; EINSPANIER, R.; SCHANS, D.; NIEMAN, H. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular IGF-I contents and the ovarian response following superovulation treatment in dairy cows: a preliminary study. **Theriogenology**, v.41, p.601-611, 1994.

JOUSAN, F.D.; HANSEN, P.J. Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. **Biology of Reproduction**, v.71, p.1665-1670, 2004.

KOZICKI, L.E.; SEGUI, M.S.; FANTINI FILHO, J.C.; PRADO, F.R.A.; MATTE, F.; GLASSER JÚNIOR, P.; WEISS, R.R. A somatotropina bovina (BST) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.1, p.35-44, 2005.

LUCY, M.C.; THATCHER, W.W.; COLLIER, R.J.; SIMMEN, F.A.; KO, Y.; SAVID, J.D. Effects of somatropin the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy on cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, p.73-82, 1995.

MORAES JÚNIOR, F.J.; TORRES JÚNIOR, J.R.S.; NASCIMENTO, I.M.; SOUSA JÚNIOR, A.; CORREIA, H.S.; SILVA, A.B.; VIEIRA, R.J.; SOUZA, J.A.T. Efeito da Somatotropina na resposta ovulatória e na qualidade de embriões de vacas Nelore. **Revista Científica de Produção Animal**, v.10, n.2, p.162-173, 2008.

MOREIRA, F.; BADINGAL, L.; BURNLEY, C.; THATCHER, W.W. Bovine somatropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. **Theriogenology**, v.57, p.1371-1387, 2002.

NAGANO, A.Y.; WEISS, R.R.; BUCHELE, J.M.; MURADAS, P.R.; GRANEMANN, L.C. A somatotropina bovina recombinante (rBST) na superovulação de fêmeas bovinas. **Archive of Veterinary Science**, v.9, n.2, p.101-106, 2004.

NEVES, E.F.; RAMOS, A.F.; MARQUES JÚNIOR, A.P. Pré tratamento com somatotropina bovina (rBST) na superovulação de doadoras da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.205-209, 2005.

PAVLOK, A.; KOUTECKÁ, L.; KREJČÍ, P.; SLAVÍK, T.; CERMON, J.; SLABA, J.; DORN, D. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.41, p.183-192, 1996.

POLAQUINI, E.M.; SOUZA, J.G.; GEBARA, J.J. Transformações técnico-podutivas e comerciais na pecuária de corte brasileira a partir da década de 90. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.35, n.1, p.321-327, 2006.

RAMOS, A.A.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; POLISSENI, J.; HENRY, M. Efeito da somatotropina na população folicular, recuperação de oócitos e produção *in vitro* de embriões em vacas Gir. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.380-386, 2007.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide for Windows Environment**. Version 6.12. Cary, NC, 1996. 79p.

SHIMIZU, T.; MURAYAMA, C.; SUDO, N.; KAWASHIMA, C.; TETSUKA, M.; MIYAMOTO, A. Involvement of insulin and growth hormone (GH) during follicular development in the bovine ovary. **Animal Reproduction Science**, v.106, n.1, p.143-152, 2008.

STRINGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3 ed. Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões. Biblioteca do Congresso, 1999. 1998.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.3, p.915-924, 2007.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; CAMPBELL, B.K.; HUNTER, M.G. Intra-ovarian regulation of follicular development and oocyte competence in farm animals. **Theriogenology**, v.68, p.22-29, 2007.

YASEEN, M.A.; WRENZYCKI, C.; HERRMANN, D.; CARNWATH, J. W.; NIEMANN, H. Changes in the relative abundance of mRNA transcripts for insulin-like growth factor (IGF-I and IGF-II) ligands and their receptors (IGF-IR/IGF-IIR) in preimplantation bovine embryos derived from different *in vitro* systems. **Reproduction**, v.122, p.601-610, 2001.

Data de recebimento: 25/04/2011

Data de aprovação: 05/11/2011