PAULO ALEXANDRE FERNANDES MARQUES

INFLUÊNCIA DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST) APLICADA EM RECEPTORAS DE EMBRIÕES BOVINOS, NO DIA DO ESTRO, SOBRE VARIÁVEIS REPRODUTIVAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da UFV

T
M357i
2006

Marques, Paulo Alexandre Fernandes, 1976-
Influência da somatotropina recombinante bovina (rbST) aplicada em receptores de embriões bovinos, no dia do estro, sobre variáveis reprodutivas / Paulo Alexandre Fernandes Marques. – Viçosa : UFV, 2006.
xii, 52f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.
Orientador: Eduardo Paulino da Costa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Somatotropina bovina. 2. Bovino - Embrião. 3. Bovino - Reprodução. I. Universidade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 636.2089647

“Dedico todo este trabalho a meus pais, João Tavares Marques e Mathilde dos Anjos Fernandes Marques e irmãos por toda minha formação nos conceitos de educação e respeito ao próximo, acreditando e incentivando a superar os momentos difíceis para chegar até aqui”

AGRADECIMENTO

A Deus por estar sempre nos guiando e abençoando em todos os instantes da vida, e ter delineado a escolha desta carreira tão maravilhosa e apaixonante de ser Médico Veterinário.

A meus pais João Tavares Marques e Mathilde dos Anjos Fernandes Marques, mais uma vez, por me proporcionarem estar trilhando este caminho e sempre acreditar em mim.

Aos meus irmãos Luís Sérgio, Hélio César e Marcos Roberto pelas brigas de infância e união mesmo estando todos distantes seguindo seus caminhos.

À meus avós Amadeu dos Santos Fernandes (*in memorian*), que não está mais entre nós e abençoa lá de cima mais esta minha conquista, e Lourdes Martins Fernandes pela ajuda e carinho.

À Daniele Canabrava Jácome, presente de Deus, pela paciência e atenção nos momentos difíceis, sempre aconselhando e incentivando a nunca desistir e ter sempre perseverança na realização deste sonho. Pessoa fundamental na conclusão deste trabalho. Muito, mas muito obrigado por estar ao meu lado.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Veterinária por toda minha formação, vão ficar sempre os agradecimentos e o orgulho de ter sido formado por esta casa.

A FAPEMIG pelo financiamento da pesquisa.

Ao professor e orientador de mestrado Eduardo Paulino da Costa pelos aprendizados, oportunidades e estímulo no sentido de sempre estar buscando superar novos desafios.

Ao professor José Domingos Guimarães pela formação acadêmica, companheirismo e incentivo nos momentos difíceis, pelos ensinamentos, atenção e

amizade ao longo de toda pós-graduação, que irão servir de exemplo na minha vida profissional.

Ao Dr. Antônio Carlos de Carvalho Fernandes pela co-orientação e sugestões para elaboração desta pesquisa.

Aos Professores Ciro Alexandre Alves Torres, Giovanni Ribeiro de Carvalho e Antônio Bento Mancio pelas valiosas sugestões e por participarem da banca examinadora.

A minha família de Viçosa e eternos grandes Amigos Neylor Faber Sepúlveda, Roberto Araújo da Costa, Paulo Gustavo Martins, Eduardo Ianino Fortes, Fernanda Saules e Andreza Soriano, pelas risadas nos momentos felizes e choros nos tristes, pelas discussões e incentivos, alguns mais perto, outros mais longe, mas nunca vocês serão esquecidos, em mais esse trecho percorrido na longa caminhada de ser Médico Veterinário.

A especial Amiga Morgana Brasileiro pelos incentivos, convivência e auxílio em todos os momentos deste mestrado.

Aos Amigos e companheiros da república Carcanhá de Grilo João Batista, Paulo Ricardo, Márcio Moreto e Jair Camargo pelas brincadeiras e risadas, brigas e discussões ao longo de toda vida de Viçosa.

Aos funcionários do Departamento de Veterinária, Rose (secretaria de Pós-graduação), Seu Nenzinho e Divino (Laboratório de Reprodução Animal), Celinho e José de Oliveira (Setor de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais) pelo auxílio nas tarefas diárias sempre com bom humor e carisma.

Aos Médicos (as) Veterinários (as) e Zootecnictas, companheiros (as) de pós-graduação Chico, Mirian, Leonardo, Luiz Gustavo, Éder, Fabiana, Amanda, Rogério, Éric, Miller, Lafon, Silvinha e Fabiana Lana pelas trocas de informações e auxílios ao longo do mestrado.

Aos proprietários e funcionários da Casa Branca Agropastoril e da Fazenda Bela Vista por permitirem a realização deste experimento, disponibilizando seus animais e pela aconchegante atenção destinada nesse breve contato.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), CNPGL, e ao técnico Gilmar (Del) pela atenção e dedicação na realização das dosagens hormonais em seu laboratório.

Aos funcionários da empresa Biotran, Thales e Eduardo pelo auxílio e disposição em participar deste trabalho, pelo apoio e atenção ao longo de todo o experimento.

Enfim, a todos aqueles que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Paulo Alexandre Fernandes Marques, filho de João Tavares Marques e Mathilde dos Anjos Fernandes Marques, nasceu em São Paulo, São Paulo, em 24 de junho de 1976.

Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, em janeiro de 2005, em março do mesmo ano ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Reprodução Animal.

Em 18 de dezembro de 2006, submeteu-se à defesa de tese para obtenção do titulo de “Magister Scientiae”.

SUMARIO

RESUMO x
ABSTRACT xii
I. INTRODUÇÃO GERAL..... 1
II. REVISÃO DE LITERATURA 2
II.1. Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos 2
II.2. Importância da Progesterona no Estabelecimento da Gestação 4
II.3. Reconhecimento Materno Fetal 6
II.4. Transferências de Embriões e Perdas Embrionárias 7
II.5. Somatotropina Bovina (bST) 9
II.5.1. Ação Luteotrófica da bST 11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 13
CAPÍTULO 1 24
1. INTRODUÇÃO 24
2. MATERIAL E MÉTODOS 25
2.1. Localização e Período 25
2.2. Animais 25
2.2.1. Doadoras de Embriões 25
2.2.1.1. Superovulação e Inseminação 26
2.2.1.2. Coleta, Manipulação e Avaliação dos Embriões 26
2.2.2. Receptoras de Embriões 27
2.2.2.1. Seleção 27
2.2.2.2. Sincronização do Estro e Aplicação da rbST 27
2.2.2.3. Inovulação de Embriões 28
2.2.2.4. Coleta de Sangue 28
2.3. Distribuição dos Animais Experimentais 29
2.4. Análise de Progesterona 29
2.5. Diagnóstico de Gestação 29
2.6. Análise Estatística 29
3. RESULTADOS 30
4. DISCUSSÃO 31
5. CONCLUSÃO 34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 34

CAPÍTULO 2 38
1. INTRODUÇÃO 38
2. MATERIAL E MÉTODOS 39
2.1. Localização e Período 39
2.2. Animais 39
2.2.1. Doadoras de Embriões 39
2.2.1.1. Superovulação e Inseminação 40
2.2.1.2. Coleta, Manipulação e Avaliação dos Embriões 40
2.2.2. Receptoras de Embriões 41
2.2.2.1. Seleção 41
2.2.2.2. Sincronização do Estro e Aplicação da rbST 41
2.2.2.3. Inovulação de Embriões 42
2.2.2.4. Coleta de Sangue 42
2.3. Distribuição dos Animais Experimentais 43
2.4. Análise de Progesterona 43
2.5. Diagnóstico de Gestação 43
2.6. Análise Estatística 43
3. RESULTADOS 44
4. DISCUSSÃO 45
5. CONCLUSÕES 47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47
III. CONCLUSÕES GERAIS 51
IV. APÊNDICE 52

LISTA DE TABELAS

1. CAPÍTULO 1

Tabela 1.1. Número de animais e taxas de gestações em receptoras inovuladas com embriões à fresco tratadas ou não tratadas com rbST (500 mg) no dia do estro. 30

Tabela 1.2. Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras gestantes e não gestantes, segundo o tratamento. 30

Tabela 1.3. Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras gestantes e não gestantes, para embriões à fresco, segundo o tratamento. 31

2. CAPÍTULO 2

Tabela 2.1. Número de animais e taxas de gestações em receptoras inovuladas com embriões descongelados, tratadas ou não tratadas, com 250 ou 500 mg de rbST no dia do estro. 44

Tabela 2.2. Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras gestantes e não gestantes, tratadas ou não com 250 ou 500 mg de rbST. 45

Tabela 2.3. Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras tratadas ou não com 250 ou 500 mg de rbST, independentemente do estado gestacional. 45

RESUMO

MARQUES, Paulo Alexandre Fernandes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2006. **Influência da somatotropina recombinante bovina (rbST) aplicada em receptoras de embriões bovinos, no dia do estro, sobre variáveis reprodutivas.** Orientador: Eduardo Paulino da Costa. Co-Orientadores: Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Ciro Alexandre Alves Torres

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da administração, no dia do estro, de 500 mg de rbST (somatotropina bovina recombinante) em receptoras inovuladas com embriões transferidos à fresco e de 250 e 500 mg de rbST em receptoras inovuladas com embriões descongelados, sobre a concentração sérica de progesterona (P_4) no dia da inovulação e a taxa de gestação aos 30 dias. As amostras de sangue foram coletadas no dia das inovulações por punção da veia ou artéria coccígea para análise da concentração sérica de P_4. Foram utilizadas 259 receptoras mestiças, avaliadas como aptas a reprodução e divididas em dois estudos. No primeiro estudo foram utilizadas 144 receptoras, inovuladas com embriões à fresco, distribuídas aleatoriamente entre os tratamentos. O controle (T1) foi constituído por 77 receptoras e o tratado (T2) por 67 receptoras que receberam a administração de 500 mg de rbST no momento do estro. Em um segundo estudo utilizou-se 115 receptoras inovuladas com embriões descongelados subdivididas em três tratamentos. O controle (T1) foi constituido por 53 receptoras, o tratado 2 (T2) por 22 receptoras submetidas a administração de 250 mg de rbST e o tratado 3 (T3) por 40 receptoras que receberam a administração de 500 mg de rbST. As fêmeas do primeiro estudo apresentaram taxas de gestações de 65,7% (44 receptoras gestantes) entre os animais do grupo T2 e 32,5% (25 receptoras gestantes) para os do grupo T1, o que demonstra o efeito positivo ($P<0,01$) do uso da rbST sobre a taxa de gestação. Entretanto, as concentrações médias de P_4 sérica no dia da inovulação foram de 2,54±0,19 ng/mL para os animais do T1 e 2,27±0,20 ng/mL para os do T2, não sendo observada diferença ($P>0,05$). No segundo estudo as taxas de gestações encontradas foram de 45,3% (24 receptoras) para T1, 50% (11 receptoras) para T2 e 52,5% (21 receptoras) para T3. As concentrações médias de P_4 sérica no dia da inovulação foram de T1 (controle) = 5,41±2,33 ng/mL, T2 (250 mg rbST) = 5,77±2,19 ng/mL e T3 (500 mg rbST) = 4,77±1,78 ng/mL. Os resultados obtidos neste segundo estudo demonstram a ausência de efeito ($P>0,05$) do uso da rbST

sobre as taxas de gestações e as concentrações séricas de P_4. Concluiu-se que a aplicação de 500 mg de rbST em receptoras inovuladas com embriões à fresco no momento do estro, foi capaz de melhorar a taxa de gestação, mas não a concentração sérica de progesterona. No entanto, ao serem administradas 250 ou 500 mg de rbST receptoras inovuladas com embriões descongelados conclui-se a ausência de efeito positivo nas taxas de gestações e nas concentrações séricas de progesterona.

ABSTRACT

MARQUES, Paulo Alexandre Fernandes, M.Sc., Universidade Federal Viçosa, december 2006. **Influence of recombinant bovine somatotropin (rbST) applied in bovine embryo recipients, at estrous day, upon reproductive variables.** Adviser: Eduardo Paulino da Costa. Co-Adviser: Carlos Antônio de Carvalho Fernandes and Ciro Alexandre Alves Torres

The objective of the present study was to evaluate the effect of the administration, of 500 mg rbST (recombinant bovine somatotropin) in the moment of estrous of recipient heifers and cows inovulation with fresh embryos and 250 and 500 mg rbST in recipient inovulated with defrosted embryos, in progesterone serum concentration (P_4) on the day of the inovulation and at the pregnancy rate at day 30. Blood samples were collected in the day of the inovulation by puncture of the coccygeal vein or artery for assaying of the serum P4 concentration. 259 crossbred recipients, appraised as able for reproduction, were used and divided in two studies. In the first study 144 recipient heifers received fresh embryos, randomly sorted among the experiments. The control (T1) was composed by 77 recipients, and the treated (T2) 67 recipients that received 500mg rbST at the moment of estrous. In a second study, it was used 115 recipients that receive defrosted embryos subdivided in 3 treatments. 53 recipient heifers composed the control (T1), the treated 2 (T2) was composed by 22 recipients that received 250 mg of rbST and the treated 3 (T3) was composed by 40 recipients that received 500 mg of rbST. The pregnancy rate of the first study was 65.7% (44 pregnant recipients) among the animals of T2 and 32.5% (25 pregnant recipients) at T1, which demonstrates the positive effect ($P<0.01$) from the use of rbST on pregnancy rate. However, the average concentrations of serum P_4 in the day of the inovulation was 2.54±0.19 mg/ml for the animals of T1 and 2.27±0.20 mg/ml for the T2, there was no difference ($P>0.05$). The pregnancy rate of the second study recipients was 45.3% (24 recipients) among the animals of the group T1, 50.0% (11 recipient) for T2 and 52.5% (21 recipient) for T3. The average concentrations of serum P_4 in the day of the inovulation were: T1 (control) = 5.41±2.33 mg/ml, T2 (250 mg rbST) = 5.77±2.19 mg/ml and T3 (treated - 500 mg rbST) = 4.77 ± 1.78 mg/ml. The results of the second study demonstrate the absence of effect ($P>0.05$) on the rbST use over the pregnancy rate and the serum P_4 concentration. We can conclude that the administration of 500 mg

rbST in recipient inovulation that receive fresh embryo at the moment of the estrous was able to improve the pregnancy rate, but not the concentration of progesterone serum P_4. However, when administered 250 or 500 mg rbST in recipient inovulated that receive defrosted embryos, we are able to conclude that there was no positive effect on the pregnancy rate and on the progesterone serum concentration.

I. INTRODUÇÃO GERAL

A pecuária mundial, nas últimas décadas, vem exigindo dos produtores máxima eficiência produtiva no intuito de garantir um maior retorno econômico com a atividade. Assim, a otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para o incremento na eficiência produtiva e lucratividade dos rebanhos bovinos (Kozicki et al., 2005).

A partir do século XIX na Inglaterra, deu-se início à estudos sobre biotécnicas reprodutivas no sentido do desenvolvimento da seleção e dos sistemas de produção animal (Rodrigues, 2001; Nagano et al., 2004). Dentre as biotecnologias, a transferência de embriões (TE) assumiu um papel de destaque comercial durante a década de 70 nos Estados Unidos e no Brasil a partir da década de 80, quando passou a ser difundida (Reichenbach et al., 2001).

O Brasil destaca-se por possuir o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com um total de 163,9 milhões de animais (ANUALPEC, 2006), sendo o principal sistema de serviço o regime de monta natural, que produz com máxima eficiência apenas uma cria por ano.

Segundo Fernandes (1999), a técnica de transferência de embriões em bovinos vem crescendo nos últimos anos, trazendo consigo novas perspectivas para o melhoramento e a reprodução animal, no sentido de acelerar o ganho genético do rebanho e, consequentemente, maior aproveitamento do potencial reprodutivo de fêmeas bovinas de genética superior (Rodrigues, 2001), que utilizadas exclusivamente para a TE e sob boas condições de manejo, pode alcançar em média vinte produtos no mesmo período. Num programa de TE são dadas especiais atenções às doadoras, ao contrário das receptoras que são relegadas a segundo plano (Fernandes, 1999). Esse procedimento pode levar a uma queda na taxa de gestação das receptoras, tornando-se assim, um dos entraves na difusão dessa tecnologia, elevando-se os custos e diminuindo-se os benefícios.

Neste contexto, os aspectos nutricionais, sanitários e ambientais são de suma importância para o índice de fertilidade das receptoras, sendo estas subestimadas pelos técnicos e não tendo merecido as devidas atenções.

Estudos têm sido realizados no intuito de correlacionar o perfil hormonal à sobrevivência embrionária, principalmente nas três primeiras semanas de gestação, considerando-se que a diminuição na secreção de progesterona pelo corpo lúteo

pode refletir em perdas embrionárias. Esta condição pode ser explicada pelo estabelecimento e manutenção da gestação, e o crescimento embrionário estarem correlacionados com a concentração de progesterona secretada pelo corpo lúteo.

A administração da somatotropina bovina recombinante (rbST) tem sido amplamente utilizada com a finalidade de aumentar a produção leiteira e produzir melhores índices reprodutivos em resposta ao tratamento superovulatório. Apesar de nos últimos anos as pesquisas sobre rbST em doadoras de embrião terem acrescentado novos conhecimentos, pouco se tem pesquisado sobre sua aplicação em receptoras de embriões no aumento da taxa de gestação.

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da aplicação de rbST em receptoras inovuladas com embrião, no dia do estro, na concentração sérica de progesterona e na taxa de gestação.

II. REVISÃO DE LITERATURA

II.1. Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos

Os bovinos caracterizam-se por serem animais poliestrais e apresentarem ciclos estrais regulares ao longo de todo o ano, com duração média de 21 dias, podendo variar de 18 à 24 dias (Reichenback et al., 2001; Hafez, 2004).

A fisiologia do ciclo estral é complexa e depende da perfeita interação entre diferentes componentes foliculares, luteais, uterinos e do sistema nervoso central (hipotálamo e hipófise). Esta integração é regulada por eventos hormonais, de natureza endócrina, parácrina e autócrina, que culminam nos processos de crescimento folicular, maturação do ovócito, ovulação, formação do corpo lúteo e luteólise (Campbell et al., 1995).

Na espécie bovina a formação da reserva primordial de folículos ovarianos se dá durante a vida fetal ou logo após o nascimento (Hafez, 2004). Entretanto, os mecanismos responsáveis pela ativação destes folículos primordiais, ainda não estão completamente elucidados (Fonseca & Maffili, 2002).

O crescimento folicular envolve o desenvolvimento sincrônico de um grupo de folículos, denominado onda folicular (Ginther et al., 1989). Em vacas e novilhas normalmente há duas (Figueiredo et al., 1995; Borges et al., 2001c; Alves et al., 2002;) ou três (Sirois & Fortune, 1988; Borges et al., 2001c; Alves et al., 2002)

ondas foliculares por ciclo, e em alguns casos quatro ondas de crescimento folicular em animais da raça Gir (Ferreira et al., 2004).

Autores como Figueiredo et al. (1997) e Alves et al. (2002) relataram que variações quanto ao número de ondas foliculares podem existir entre animais pertencentes a mesma raça ou até no mesmo animal, podendo observar uma, duas ou três ondas, ou mais raramente, quatro. A primeira onda de crescimento folicular tem início um a três dias após o estro, apresentando uma fase de crescimento que compreende desde a emergência até o 8° dia após o estro; uma fase estática compreendida entre o 8° e o 10° dia. Após o 10° dia ocorre a fase de regressão. A emergência da segunda onda de crescimento folicular tem início em media no 10° dia após o estro, quando o processo se reinicia (Vasconcelos, 2000). O folículo dominante da última onda folicular produz elevada quantidade de estradiol (E_2) capaz de realizar uma retroalimentação positiva sobre a adeno-hipófise, suficiente para promover o pico ovulatorio do hormônio luteinizante (LH; Binelli, 2000).

Nesse contexto, a dinâmica folicular pode ser dividida em três estágios: recrutamento, seleção e dominância folicular. Adicionalmente, pode ser dividido em quatro estágios de acordo com a atividade hormonal predominante: gonadotrofina independente, FSH dependente, FSH-LH dependente e LH dependente (Ginther et al., 1996).

O período gonadotrofina independente (foliculogênese basal), que vai até próximo ao recrutamento folicular, sob o controle de peptídeos intra-foliculares como a activina e o fator de crescimento semelhante à insulina do tipo I (IGF-I), caracteriza-se pelo surgimento de receptores de FSH durante a foliculogênese pré-antral (Driancourt, 2001). O recrutamento é a fase na qual um grupo de folículos, menores que 5 mm de diâmetro, inicia um rápido crescimento estimulado pela gonadotrofina hipofisária suficiente, FSH dependente. No processo de seleção apenas dois a cinco folículos continuarão o crescimento, enquanto os demais entram em atresia (fase FSH-LH dependente) (Vasconcelos, 2000). A fase de dominância (fase LH dependente) caracteriza-se pelo folículo selecionado competir com o crescimento dos demais folículos da mesma onda, e continuar o seu desenvolvimento, possibilitando assim, a sua ovulação (Lucy et al., 1992b).

Durante esta última fase, o folículo dominante por possuir altas concentrações de estradiol e inibina, inibe o crescimento dos folículos subordinados de forma indireta, via retroalimentação, pela diminuição na concentração do FSH e

redução do número de receptores nos mesmos. Por seu maior número de receptores para gonadotrofinas e maior aporte sangüíneo, o folículo dominante torna-se capaz de manter seu crescimento e ovular (Fortune, 1994).

Após a ovulação acontece uma reorganização das células foliculares, derivadas de células da granulosa e da teça interna, em células esteroidogênicas (pequenas e grandes células luteais) e não esteroidogênicas (células endoteliais, vasculares e fibroblastos) no sentido de formar o corpo lúteo (Pate, 1996), que permanece ativo por aproximadamente 17 a 18 dias ao longo do ciclo estral (Ohtani et al., 1998). Segundo Vaca et al. (1983), o corpo lúteo (CL) secreta quantidades crescentes de progesterona (P_4) do 3° ao 7° dia do ciclo estral (dia 0 = estro), e por volta do décimo dia do ciclo estral, atingi sua produção máxima. No caso do animal gestante, a P_4 produzida pelo CL exerce *feedback* negativo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, limitando a amplitude e freqüência dos pulsos de LH, inviabilizando assim uma nova ovulação e mantendo a gestação (Ginther et al., 1996). Adicionalmente, a secreção de P_4 inibe a síntese e expressão de receptores de oxitocina e estradiol no útero, detendo a síntese e secreção de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$), e desta forma, inviabilizando a luteólise prematura (Wathes & Lamming, 1995).

Em animais não gestantes com a queda progressiva da P_4, pequena quantidade de $PGF_{2\alpha}$ começa a ser sintetizada a partir dos ácidos graxos acumulados durante a fase progesterônica (Wathes & Lamming, 1995) e secretada pelas células do epitélio uterino, por uma série de reações enzimáticas a partir dos fosfolipídeos (Okuda et al., 2002). Pelo mecanismo de contra corrente, a $PGF_{2\alpha}$ via sistema venoso uterino passa para a artéria ovariana, alcançando o ovário (Alvarez, 1987), onde promove incremento inicial na secreção de oxitocina. Os estrógenos, secretados pelos folículos da última onda folicular, estimulam a síntese e expressão dos receptores de oxitocina no útero. Então, os estrógenos e oxitocina provenientes do ovário intensificam a produção de $PGF_{2\alpha}$ que alcança concentrações máximas ao redor do 17° dia do ciclo estral, desencadeando a luteólise do CL e posterior retorno da fêmea ao estro (Wathes & Lamming, 1995).

II.2. Importância da Progesterona no Estabelecimento da Gestação

O corpo lúteo (CL) é uma glândula endócrina transitória, formada a partir da ruptura do folículo ovulatório e que desempenha a função primária de síntese e

secreção de progesterona, a qual é responsável pelo estabelecimento e manutenção da gestação (Milvae et al., 1996; Webb et al., 2002), ao longo dos 200 primeiros dias de gestação de fêmeas bovinas (Reis et al., 2004). Ao CL também compete a duração e a regulação dos ciclos estrais (Viana et al., 1999), permanecendo ativo por aproximadamente 17 a 18 dias ao longo do ciclo estral, na espécie bovina (Ohtani et al., 1998).

O CL é formado a partir da proliferação e diferenciação das células foliculares da teça e da granulosa após a ovulação. As células da granulosa e da teca interna irão dar origem as grandes células esteroidogênicas luteais (LLC) e as pequenas células esteroidogênicas (SLC), respectivamente (Fields & Fields, 1996). Esta glândula, necessária ao sucesso da gestação, foi identificada pela primeira vez em 1903 por Frankel (citado por Fonseca,1999), em estudos com coelhos, onde demonstraram que a sua remoção culminava na interrupção da gestação.

A progesterona (P_4), principal hormônio sintetizado pelo CL, tem como precursor para a esteroidogênese o colesterol, que é sintetizado pelo fígado e transportado as células esteroidogênicas como as células da teça interna e da granulosa, do corpo lúteo, células de Leydig e da córtex da adrenal na forma de lipoproteínas (Krisans, 1996). As principais vias utilizadas para a síntese de P_4, a partir do substrato colesterol, são as lipoproteínas de alta densidade (HDL), as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e os ésteres de colesterol. Uma vez no interior da célula, as lipoproteínas são quebradas por enzimas e introduzidas na rota esteroidogênica (Milvae et al., 1996).

Segundo Mann et al. (1995), a baixa concentração de P_4 promove um prematuro mecanismo de luteólise. Assim, o melhor desenvolvimento do concepto está correlacionado a concentração de P_4 produzida pelo CL (Binelli, 2000). Isto porque a P_4 está diretamente envolvida no controle do mecanismo de lise do CL, via inibição do desenvolvimento de receptores endometriais de oxitocina (Lau et al., 1992).

Entretanto, ao longo do ciclo estral a secreção e a concentração de P_4 apresentam variações cíclicas em decorrência da fase funcional do CL (crescimento, manutenção e regressão). No estro são encontradas concentrações de P_4 abaixo de 1 ng/mL e alcançando valores de 4,5 ng/mL, ao redor do décimo dia, em vacas de raças zebuínas (Adeyemo & Health, 1980) e 16ng/mL em vacas da raça holandesa (Badinga et al., 1994). Em vacas zebuínas gestantes a concentração média de

progesterona observada entre o 6° e 9° dias após o estro é de 2,46 ng/mL (Mucciolo & Barberio, 1983).

Segundo Mann et al. (1995), a P_4 no início da gestação é responsável por estimular as secreções endometriais fundamentais ao desenvolvimento embrionário. Estudos têm relatado que a sustentação de elevadas concentrações de P_4, no plasma sangüíneo materno, tem apresentado correlação positiva com a síntese de interferon-tau (IFN-τ) pelo embrião, fator essencial no reconhecimento da gestação (Mann et al., 1995; Kerbler et al., 1997; Mann & Lamming, 2001).

Reis et al. (1993) observaram a existência de um efeito positivo entre a concentração elevada de progesterona apresentada por receptoras de embrião no dia da inovulação (7° dia do ciclo estral) e a taxa de concepção. Em contrapartida, Solano et al. (2004) não observaram diferenças nas concentrações de P_4 no dia da TE entre receptoras bovinas gestantes e não gestantes. Estes últimos pesquisadores relatam elevada variação na concentração de P_4 em receptoras de embrião gestantes, desde 0,58 a 16 ng/mL, indicando que a concentração da P_4 no dia da TE não pode estar correlacionada com a taxa de gestação.

II.3. Reconhecimento Materno Fetal

A reprodução dos mamíferos é caracterizada pela implantação do embrião no endométrio, resultado de uma série complexa de eventos que se iniciam com a aposição, adesão e fixação do blastocisto ao útero, e termina com a formação da placenta (Fonseca, 1999).

O reconhecimento materno da gestação é um processo de interação fêmea e as células trofoblásticas do embrião, as quais secretam substâncias responsáveis pela sinalização à fêmea da necessidade de manutenção da gestação. Em ruminantes este processo de regulação parácrina sobre o endométrio compete ao concepto, resultando na inibição da secreção luteolítica da $PGF_{2\alpha}$ (Thatcher et al., 1997). Este período, conhecido como fase crítica no estabelecimento da gestação, está compreendido entre o 15° e 17° dia do ciclo reprodutivo para fêmeas bovinas (Binelli, 2000).

Estudos têm dado destaque ao IFN-τ como a secreção mais importante no reconhecimento e manutenção da gestação em vacas (Kerbler et al., 1997; Thatcher et al., 1997; Binelli et al., 2001), substância esta produzida pelas células

trofoblásticas embrionárias em grande quantidade (Imakawa et al., 1989). Isto foi comprovado por Martal et al. (1997) ao administrarem proteína trofoblástica intra-uterina no momento da implantação, refletindo em diminuição na taxa de mortalidade embrionária. Em bovinos o IFN-τ começa a ser secretado por volta do 8° ao 10° dia de gestação e seu pico é alcançado entre o 14° e 17° dia (Wathes & Lamming, 1995).

Segundo Binelli (2000) e Thatcher et al. (2001a), o IFN-τ é o elemento chave no processo anti-luteolítico devido a sua capacidade de supressão da síntese de $PGF_{2\alpha}$, via inibição da proteína kinase C (PKC), fosfolipase A_2, COX 2 ou receptores para oxitocina e estradiol. Porém, em bovinos o estímulo para secreção pulsátil de PGF ainda não está totalmente elucidado. A utilização de células epiteliais do endométrio de fêmeas bovinas tratadas com éster de forbol (PDBu), substância capaz de produzir PGF via ativação da enzima PKC, apresentou capacidade de inibição da síntese de PGF pelo IFN-τ (Binelli et al., 2000).

Autores como Kim & Fortier (1995) relatam o fator ativador de plaquetas derivado do embrião (EDPAF) como sendo também de grande importância no reconhecimento materno da gestação. O EDPAF é secretado no período pré-implantação (Battye et al., 1991) pelo concepto, sendo outro fator responsável pela manutenção inicial da gestação (Martal et al., 1997), influenciando no processo de implantação (Ryan et al., 1990). Battye et al. (1992) trabalhando com ovelhas, observaram a capacidade da EDPAF na supressão da secreção de $PGF_{2\alpha}$ via bloqueio da PKC.

II.4. Transferências de Embriões e Perdas Embrionárias

Vários fatores podem influenciar direta ou indiretamente sobre a taxa de sobrevivência embrionária após a TE como anormalidades cromossômicas, efeito da doadora, idade e qualidade dos embriões transferidos, método e local da transferência, sincronia doadora-receptora, estado nutricional, concentrações séricas de progesterona da receptora e estresse calórico (Galimberti et al., 2001).

Segundo Thatcher et al. (1994b), o ambiente uterino anormal decorrente de anormalidades anatômicas, perda da competência em função da idade ou desbalanço hormonal que levariam a uma assincronia entre o desenvolvimento do embrião e o

útero, também podem contribuir para perdas embrionárias precoces. Além destas, manipulação uterina e falhas de comunicação entre o embrião e o endométrio também podem ser destacadas (Dunne et al., 2000; Solano et al., 2004).

A morte embrionária é reconhecida como a maior causa de redução na fertilidade em bovinos (Diskin & Sreenan, 1980). Estudo realizado por Sreenan et al. (2001) relataram que perdas embrionárias entre o período de fertilização e o 8° dia de gestação, e entre o 16° e 45° dia de gestação são consideradas pequenas, todavia são de grande relevância as compreendidas entre o 8° e 16° dia de gestação, que podem variar de 70 a 80%.

A elevação da temperatura corpórea durante o período de verão pode promover um aumento da temperatura uterina, com conseqüente redução na taxa de gestação (Thatcher, 1974). Solano et al. (2004) observaram alta taxa de retorno ao estro após TE (70,3%) durante a estação chuvosa, o que foi creditado a elevada temperatura no referido período. A elevação de 0,85°C na temperatura retal de vacas foi capaz de reduzir em 25,1% a taxa de gestação de vacas inseminadas (Pires et al., 2002). A maior incidência de mortalidade embrionária decorrente de estresse térmico ocorre entre o 6° e 14° dias de gestação (Ryan et al., 1993).

Nesse contexto, o estresse térmico tem sido apontado como fator determinante no aumento de mortes embrionárias no período pós TE (Rensis & Scaramuzzi, 2003), como resultado de variações na temperatura e/ou afluxo sangüíneo para o trato reprodutivo, aumentando o fluxo sangüíneo periférico. Consequentemente, a diminuição da perfusão de nutrientes e hormônios para o aparelho reprodutivo, pode comprometer sua função (Hansen & Aréchiga, 1999).

O comprometimento do crescimento embrionário também é observado sob altas temperaturas devido a menor produção de IFN-τ pelo embrião (Rensis & Scaramuzzi, 2003), principal fator responsável pelo reconhecimento materno da gestação, levando a morte embrionária precoce (Thatcher & Hansel (1992), citado por Binelli et al., 2001).

Um aspecto de grande relevância é que animais submetidos a condições estressantes, como por exemplo, temperatura e umidade elevadas, durante o período de desenvolvimento folicular, podem ter a formação do CL comprometida levando a uma disfunção luteal (Wolfenson et al., 1995; Wilson et al., 1998ab). Pode ocorrer também elevação na concentração de prostaglandina (Malayer et al., 1990) e

aumento na concentração de $PGF_{2\alpha}$ afetando o desenvolvimento embrionário (Schrick et al., 1993).

Martal et al. (1997) relatam que são necessários maiores estudos e melhor compreensão dos mecanismos de controle do crescimento, diferenciação e implantação do zigoto, no intento de se reduzir a mortalidade embrionária em ruminantes.

II.5. Somatotropina Bovina (bST)

A somatotropina bovina (bST) ou hormônio do crescimento (GH) foi identificada a partir da hipófise bovina por influenciar vários processos metabólicos e fisiológicos (Lucy, 2000; Kozicki et al., 2005). Trata-se de um peptídeo com 192 aminoácidos e sintetizado pelas células acidófilas (somatotróficas) localizadas no núcleo ventromedial da adeno-hipófise (Guyton & Hall, 1997). Sua secreção é estimulada pela ação do hormônio liberador de GH (GHRH) e inibida pela somatostatina (fator inibidor de GH), ambos produzidos pelo hipotálamo (Bauman, 1992).

A somatotropina tem a capacidade de agir nos tecidos muscular, adiposo e hepático. Seus principais efeitos são observados no aumento dos tecidos esqueléticos e musculares, no aumento da disponibilidade de glicose na circulação e no estímulo sobre o pâncreas para a liberação de insulina (Prado et al., 2003).

Visando inicialmente o aumento da produção leiteira em ruminantes (Borges et al., 2001b), foram desenvolvidos processos de produção da somatotropina bovina recombinante (rbST) em escala industrial, a partir da técnica de DNA recombinante em *Escherichia coli* (Santos et al., 2001).

Segundo Lucci et al. (1998) o efeito da bST sobre a produção de leite tem sido relatado por diversos estudos, e a aplicação de 500 mg/animal a cada 14, 21 ou 28 dias têm refletido num aumento significativo da produção leiteira. Resultado similar também foi encontrado por Ferreira et al. (2002), os quais trabalharam com vacas holandesas primíparas tratadas com 500mg de bST, 24 horas após o parto, e verificaram aumento na produção de leite e no teor de gordura. Entretanto, o uso da bST em vacas lactantes tem sido associado a diminuição da eficiência reprodutiva, como o aumento nos dias ao primeiro serviço e a redução da freqüência de estro comportamental (Moreira et al., 2002).

Os órgãos reprodutivos de fêmeas bovinas sofrem ação da rbST aumentando a população de folículos antrais recrutados (Buratini Jr. et al., 1999), controlando o crescimento folicular e a função do corpo lúteo (Lucy et al., 1993). No útero, estimula a atividade secretória das glândulas endometriais (Thatcher et al., 2001b; Moreira et al., 2002). Além disso, é capaz de melhorar o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (Moreira et al., 2000; Moreira et al., 2002), acelerando o desenvolvimento embrionário (Nagano et al., 2004) e aumentando, consequentemente, o índice de prenhez (Wathes et al., 1998).

Os receptores para a bST são encontrados no útero, ovários e fígado induzindo a produção do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) (Lucy, 2000). Neste último é encontrada maior quantidade de receptores (Lucy, 2000; Kozicki et al., 2005), sendo o principal sítio responsável pela síntese do IGF-I (Kozicki et al., 2005) e de proteínas transportadoras (IGFBP), que são mediadores hormonais nos processos metabólicos (Lucy, 1996). Segundo Cushmann et al. (2001), a bST após a sua aplicação persiste na circulação por até três semanas duplicando a concentração sangüínea de IGF-I.

Moseley et al. (1992) relatam que ao serem administradas doses crescentes de rbST, as concentrações de IGF-I aumentam justificando o fato da atividade promotora do crescimento pela somatotropina dar-se em parte pelo IGF-I. O efeito positivo da bST sobre o desenvolvimento folicular vem acompanhado da elevação nas concentrações plasmáticas de somatotropina e IGF-I (Buratini Jr. et al., 1999). Isto contrapõe os resultados encontrados por Prado et al. (2003) que ao administrarem dose única ou a cada 14 dias, durante 84 dias, não observaram alterações nas concentrações de IGF-I. O aumento nos níveis séricos de IGF-I é observado em vacas no pré parto tratadas com rbST. Entretanto, a elevação é dependente do plano nutricional do animal (Pauletti et al., 2005).

A liberação de IGF-I pelo fígado, em resposta a terapia com rbST, tem desempenhando papel importante no reconhecimento materno da gestação. Isto ocorre devido à dependência parcial dos embriões ao IGF-I no sentido de secretar fatores essenciais ao processo de sinalização pelo embrião da sua presença no útero (Lucy et al., 1995).

O efeito da suplementação com hormônio do crescimento e com IGF-I, ou ambos em embriões foi comprovado em estudo utilizando cultura de células embrionárias de bovinos (Mann & Lamming, 2001). Segundo esses pesquisadores,

estas substancias promovem um desenvolvimento embrionário acelerado e aumento no número de células por embrião, resultando em maior secreção de interferon-tau. Adicionalmente, Wathes et al. (1998) sustentam que o princípio do IGF-I é regular a atividade secretória das glândulas endometriais, aumentando consequentemente, as chances de levar a gestação a termo devido a melhora no ambiente uterino.

Em doadoras de embrião, a utilização da rbST têm sido pesquisada no intuito de avaliar a resposta superovulatória desses animais, sendo responsabilizada por aumentar o número de embriões viáveis (Nagano et al., 2004; Neves et al., 2005). Entretanto, esta condição não foi observada por Borges et al. (2001b), os quais ao administrarem rbST antes do processo de superovulação não encontraram efeito positivo no número de estruturas recuperadas. Assim, o mecanismo de ação pelo qual a rbST interfere na função reprodutiva e melhora a performance reprodutiva ainda não está completamente esclarecido (Lucy et al., 1995).

II.5.1. Ação Luteotrófica da bST

O corpo lúteo quando comparado aos demais tecidos reprodutivos apresenta um maior número de receptores para bST (Lucy et al., 1994) e IGF-I (Pate, 1996). Segundo Pavlok et al. (1996), a bST potencializa a secreção de IGF-I desencadeando uma cascata de eventos que, de forma direta e indireta, acelera o crescimento do corpo lúteo, a secreção de progesterona durante a fase luteínica do ciclo estral e aumenta a concentração periférica de IGF-I.

O IGF-I desempenha importante papel no sentido de incrementar a captação e absorção das lipoproteínas, e no aumento da esteroidogênese pelas células da granulosa (Buhr, 1987). Desta maneira, é capaz de estimular o corpo lúteo a sintetizar progesterona durante a fase luteínica do ciclo estral (Borges et al., 2001a).

A aplicação de rbST promove o aumento no peso do corpo lúteo (Lucy et al., 1992a), na concentração sérica de progesterona (Schemm et al., 1990) e no número de folículos em vacas (Gong et al., 1991). Esta resposta pode estar associada ao aumento na concentração de IGF na circulação (Peel et al., 1987) e no fluido folicular, ou a ação direta da rbST sobre os ovários (Lucy et al., 1992a).

Segundo Fonseca et al. (2001b) um pico na concentração de P_4 é observado 48 horas após a administração de rbST. Schemm et al. (1990) relataram que ao administrarem 25 mg/dia de rbST durante o ciclo estral de vacas em lactação, foram alcançados aumento na esteroidogênese e no peso do CL durante este período, demonstrando ser uma via alternativa para o incremento da função do CL. A rbST

nos ovários age não só no incremento do desenvolvimento inicial, bem como prolonga a função do corpo lúteo e também é capaz de modular a dinâmica folicular, pela antecipação da segunda onda folicular em novilhas (Lucy et al., 1994).

No intuito de induzir a formação de CL acessório via administração de rbST, Fonseca et al. (2000) não obtiveram sucesso ao utilizarem esta terapia no 5° dia do ciclo estral de novilhas. Fonseca et al. (2001b) utilizaram 13 novilhas receptoras mestiças Holandês-Zebu que receberam 500 mg de rbST no quinto dia do ciclo estral e não observaram a formação de corpo lúteo acessório, mesmo fato ocorrido nos 12 animais do grupo controle sem o hormônio. Ao ser analisada a concentração plasmática de progesterona no 13° dia do ciclo estral de novilhas que receberam ou não embrião, observou-se ausência de efeito da terapia sobre os níveis de P_4 e taxa de gestação (62,5%). Corroborando, Hasler et al. (2003) ao administrarem rbST logo após a TE em novilhas receptoras, também não observaram elevação no índice de gestação do grupo tratado quando comparado ao grupo controle.

Menores concentrações séricas de progesterona para os animais tratados com 500 mg de rbST quando comparados ao grupo controle foram relatadas por Fonseca et al. (2001b) e Thatcher et al. (2006). Isto pode ser devido a somatotropina incrementar o metabolismo e o fluxo sangüíneo hepático e, com isso, promover um maior *clearance* hormonal (Thatcher et al., 2006).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEYEMO, O.; HEATH, E. Plasma progesterone concentration in *Bos taurus* and *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 14, n. 6, p. 411-420, 1980.

ALVAREZ, R.H. Fisiologia do ciclo sexual dos mamíferos. **Zootecnia**, Nova Odessa, v. 25, n. 4, p. 379-400, 1987.

ALVES, N.G.; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D. et al. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça Holandesa e mestiças Holandês x Zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 31, n. 2, p. 627-634, 2002.

ANUALPEC 2006. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 370p. 2006.

BADINGA, L.; THATCHER, W.W.; WILCOX, C.J. et al. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17b, progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v. 42, p. 1263-1274, 1994.

BATTYE, K.M.; O'NEILL, C.; EVANS, G. Evidence that platelet-activating factor supresses uterine oxytocin-induced 13, 14-dihydro-15-ketoprostaglandin F2α release and phosphatidylinositol hydrolysis in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 47, p. 213-219, 1992.

BATTYE, K.M.; AMMIT, A.J.; O'NEILL, C. et al. Production of platelet activating factor by the pre-implantation sheep embryo. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 93, p. 507-514, 1991.

BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 12, p. 3432-3451, 1992.

BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R. et al. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Departamento de Reprodução Animal – FMVZ/USP, p. 99-114, 2000.

BINELLI, M.; GUZELOGLU, A.; BADINGA, L. et al. Interferon-τ modulates phorbol ester-induced production of prostaglandin and expression of

cyclooxygenase-2 and phospholipase-A_2 from bovine endometrial cells. **Biology of Reproduction** , v. 63, p. 417-424, 2000.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas das raças Gir e Nelore. **Rev. Bras. Zootec**., v. 32, n. 2, p. 276-283, 2003.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Concentração plasmática de progesterona e metabólitos lipídicos em novilhas mestiças tratadas ou não com hormônio de crescimento e superovuladas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1689-1696, 2001a.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Resposta superovulatória de novilhas mestiças Holandês-Zebu tratadas com somatotropina bovina recombinante (rbST). **Rev. Bras. Zootec**., v. 30, n. 5, p. 1439-1444, 2001b.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 5, 2001c.

BORGES, A.M. **Dinâmica folicular e superovulação em novilhas mestiças tratadas com somatotropina bovina (rBST) e efeito da temperatura na qualidade dos embriões.** Viçosa, MG: DZO, 1999. 100p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 1999.

BUHR, M.M. Effect of lipoproteins and luteinizing hormone on progesterone production by large and small luteal cells throughout the porcine estrus cycle. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1027-1031, 1987.

BURATINI JR., J.; PRICE, C.A.; BÓ, G.A. et al. Os efeitos do BST e da ablação do folículo dominante sobre o desenvolvimento folicular. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, supl., v. 27, n. 1, 1999.

CAMPBELL, B.K.; SCARAMVZZI, R.J.; WEBB, R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. **Journal Reproduction and Fertility**, supl. 49, p. 335-350, 1995.

CUSHMANN, R.A.; DE SOUZA, J.C.; HELGPETH, V.S. et al. Effect of long-term treatment with recombinant bovine somatotropin and estradiol on hormone concentrations and ovulatory response of superovulated cattle. **Theriogenology**, v. 55, p. 1533-1547, 2001.

DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers and artificial insemination. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, p. 463-468, 1980.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211-1239, 2001.

DUNNE, L.D.; DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 58, p. 39-44, 2000.

FERNANDES, C.A.C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**., v. 51, n. 3, p. 263-266, 1999.

FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. et al. População folicular ovariana durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 33, n. 6, supl. 1, p. 1689-1694, 2004.

FERREIRA, A.T.; SOUZA, J.C.; PEREIRA, M.N. et al. Influência da somatotropina bovina recombinante (rBST), aplicada um dia após o parto, sobre a produção da vacas da raça holandês primíparas. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras. Edição Especial, p. 1568-1574, dez., 2002.

FIELDS, M.J.; FIELDS, P.A. Morphlogical characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous and pregnancy **Theriogenology,** v. 45, p. 1295-1325, 1996.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; ROCHA, G.P. et al. Prevalência de duas ondas de crescimento folicular ovariano em vacas da raça Nelore. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 19, n. 3-4, p. 200-211, 1995.

FONSECA, J.F.; MAFFILI, V.V. Biotecnologia da reprodução em Ruminantes. *VII Jornada de Medicina Veterinária da Universidade Paranaense,* 57 p., 2002.

FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; PALHARES, M.S. et al. Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 4, 2001b.

FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; PINTO NETO, A. et al. Indução de corpo lúteo acessório em novilhas. **Res. Bras. Reprod. Anim.**, v. 24, n. 3, p. 143-147, 2000.

FONSECA, J.F. **Corpo lúteo acessório, perfil plasmático de progesterona e taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos tratadas com diferentes hormônios.** Belo Horizonte, MG: Escola de Veterinária da UFMG, 1999. 93p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1999.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 225-232, 1994.

GALIMBERTI, A.M.; FONSECA, F.A.; ARAÚJO, M.C.C. et al. Taxa de gestação e níveis plasmáticos de progesterona, em receptoras de embrião bovino, tratadas com buserelina após a inovulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 353-359, 2001.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187-1194, 1996.

GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 87, p. 223-230, 1989.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: Follicular populations and peripheral hormones. **Biology of Reproduction**, v. 45, p. 941-949, 1991.

GUYTON & HALL. Os hormônios hipofisários e seu controle pelo hipotálamo In: GUYTON, A. C. & HALL, J. E. (Ed.) *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 9 ed., p. 847-857, 1997.

HAAS, G.T.S. **Taxa de gestação e concentração sérica de progesterona em receptoras de embrião bovino tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST)**. Viçosa, MG: DVT, 2004. 38p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, 2004.

HAFEZ, E.S.E. Ciclos reprodutivos In: HAFEZ, E.S.E. (Ed.) **Reprodução Animal**. São Paulo: Manole. 7 ed., p. 55-67, 2004.

HANSEN, P.J.; ARECHIGA, C.F. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 36-50, supl. 2, 1999.

HANSEN, P.J.; EALY, A.D. Effects of heat stress on the establishment and maintenance of pregnancy in cattle. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, 1991, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte, p. 108-119, 1991.

HASLER, J.F.; BILBY, C.R.; COLLIER, R.J. et al. 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.

HENRICKS, D.M.; LAMOND, D.R.; HILL, J.R. et al. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 33, p. 450-454, 1971.

IMAKAWA, K.; HANSEL, T.R.; MALATHY, P.A. et al. Molecular cloning and characterization of complementary deoxyribonucleic acid corresponding to bovine trophoblast protein-1: a comparison with the ovine trophoblast protein-1 and bovine interferon-α_{II}. **Molecular Endocrinology**, v. 3, p. 127-139, 1989.

KERBLER, T.L.; BUHR, M.M.; JORDAN, L.T. et al. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.

KIM, J.J.; FORTIER, M.A. Cell type specificity and protein kinase C dependency on the stimulation of prostaglandin E2 and prostaglandin F2α production by oxytocin and platelet-activating factor in bovine endometrial cells. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 103, p. 239-247, 1995.

KOZICKI, L.E.; SEGUI, M.S.; FANTINI FILHO, J.C. et al. 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.

KRISANS, S.K. Cell compartimentalization of cholesterol biosynthesis. **Annual NY Academic Science.** v. 804, p. 142-164, 1996.

LAU, T.M.; GOW, G.B.; FAIRCLOUGH, R.J. Differential effects of progesterone treatment on the oxytocin-induced prostaglandin F2α response and the levels of endometrial oxytocin receptors in ovariectomized ewes. **Biology of Reproduction**, v. 46, p. 17-22, 1992.

LUCCI, C.S.; RODRIGUES, P.H.M.; SANTOS JR, E.J. et al. Emprego da somatotropina bovina (BST) em vacas de alta produção. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 35, n. 1, p. 46-50, 1998.

LUCY, M.C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1635-1647, 2000.

LUCY, M.C. Use of bovine somatotropin to increase follicular growth in cattle: Applications to superovulation. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 15, 1996, Portland, Oregon. **Proceedings...** Portland, p. 61-70, 1996.

LUCY, M.C.; THATCHER, W.W.; COLLIER, R.J. et al. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 12, p. 73-82, 1995.

LUCY, M.C.; CURRAN, I.T.; COLLIER, R. et al. Extended function of the corpus luteum and advanced follicular development in heifers treated with bovine somatotropin. **Theriogenology**, v. 41, p. 561-572, 1994.

LUCY, C.M.; COLLIER, R.J.; KITCHELL, M.L. et al. Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. **Biology of Reproduction**, v. 48, p. 1219-1227, 1993.

LUCY, M.C.; THATCHER, W.W.; SAVIO, J.D. et al. Effect of bovine somatotropin on ovarian follicles, corpora lutea (CL), and embryos during early pregnancy in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, (suppl 1), p.271 (abstract 528), 1992a.

LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L. et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3615-3626, 1992b.

MALAYER, J.R.; HANSEN, P.J.; GROSS, T.S. et al. Regulation of heat shock induced alterations in the release of prostaglandins by the uterine endometrium of cows. **Theriogenology**, v. 34, p.219-230, 1990.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-180, 2001.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; FRAY, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 121-131, 1995.

MARTAL, J.; CHÊNE, N.; CALMOUS, S. et al. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFNτ and other citokines in early pregnancy. **Reproduction and Fertility Development**, v. 9, p. 355-380, 1997.

MILVAE, R.A.; HINCKLEY, S.T.; CARLSON, J.C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. **Theriogenology**, v. 45, p. 1327-1349, 1996.

MOREIRA, F.; BADINGA, L.; BURNLEY, C. et al. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-ransfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. **Theriogenology**, v. 57, p. 1371-1387, 2002.

MOREIRA, F.; RISCO, C.A.; PIRES, M.F.A. et al. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1234-1247, 2000.

MOSELEY, W.M.; PAULISSEN, J.B.; GOODWIN, M.C. et al. Recombinant bovine somatotropin improves growth performance in finishing beef steers. **Journal Animal Science**, v. 70, n. 2, p. 421-425, 1992.

MUCCIOLO, R.G.; BARBERIO, J.C. Níveis de progesterona no plasma sangüíneo, durante o ciclo estral e a gestação, de vacas nelore (Bos indicus). **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 7, n. 1, p. 11-21, 1983.

NAGANO, A.Y.; WEISS, R.R.; BÜCHELE, J.M. et al. A somatotropina bovina recombinamento (rbST) na superovulação de fêmeas bovinas. **Archives 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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 57, n. 2, p. 205-209, 2005.

OHTANI, M.; KOBAYASHI, S.; MIYAMOTO, A. et al. Real-time relationships between intraluteal and plasma concentrations of endothelin, oxytocin, and progesterone during prostaglandinF2α- induced luteolysis in the cow. **Biology of Reproduction**, v. 58, p. 103-108, 1998.

OKUDA, K.; MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D.J. Regulation of endometrial prostaglandin F2alfa synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 255-264, 2002.

PATE, J.L. Intercellular comunication in the bovine corpus luteum. **Theriogenology,** v. 45, p. 1381-1397, 1996.

PAULETTI, P.; BAGALDO, A.R.; KINDLEIN, L. et al. IGF-I e IgG séricos e nas secreções lácteas em vacas tratadas com rbST no período pré-parto. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 34, n. 3, p. 976-986, 2005.

PAVLOK, A.; KOUTECKÁ, L.; KREJCI, P. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 41, p. 183-192, 1996.

PEEL, C.J.; BAUMAN, D.E. Somatotropin and lactation. **Journal Dairy Science**, v. 70, p. 474-486, 1987.

PIRES, M.F.A.; FERREIRA, A.M.; SATURNINO, H.M. et al. Taxa de gestação em fêmeas da raça Holandesa confinadas em free stall, no verão e inverno. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 54, n. 1, 2002.

PRADO, I.N.; NASCIMENTO, W.G.; NEGRÃO, J.A. et al. Somatotropina bovina recombinante (rBST) nos aspectos hematológicos e metabólicos do sangue de novilhas (½ Nelore x ½ Red Angus) em confinamento. **Rev. Bras. Zootec**., v. 32, n. 2, p. 465-472, 2003.

REICHENBACK, H.D.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. Transferência e Criopreservação de embriões bovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2001. p. 127-178.

REIS, E.L.; NASSER, L.F.; NICHI, M. et al. Mortalidade embrionária em receptoras (*Bos indicus* X *Bos taurus*) superovuladas com eCG. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, (suplemento), p. 198, 2004.

REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T. et al. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embrião bovino com maiores concentrações plasmáticas de progesterona no dia da inovulação. In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 10, 1993, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte, v. 2, p. 221, 1993.

RENSIS, F.D.; SCARAMUZZI, R.J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. **Theriogenology**, v. 60, p. 1139-1151, 2003.

RODRIGUES, J.L. Transferência de embriões bovinos: histórico e perspectivas atuais. **Revista Brasileira de Reprodução**, v.25, p.102-107, 2001.

RYAN, D.P.; PRICHARD, J.F.; KOPEL, E. et al. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. **Theriogenology**, v. 39, p. 719-737, 1993.

RYAN, J.P.; SPINKS, N.R.; O'NEILL, C. et al. Implantation potential and fetal viability of mouse embryos cultured in media supplemented with platelet-activating factor. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 89, p. 309-315, 1990.

SANTOS, R.A.; TEIXEIRA, J.C.; ABREU, L.R. et al. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (rBST) na produção e composição do leite. **Ciênc. Agrotec**., v. 25, n. 6, p. 1435-1445, 2001.

SCHEMM, S.R.; DEAVER, D.R.; GRIEL, L.C. et al. Effects of recombinant bovine so-matotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. **Biology of Reproduction,** v. 42, p. 815-821, 1990.

SCHRICK, F.N.; INSKEEP, E.K.; BUTCHER, R.L. Pregnancy rates for embryos transferred from early postpartum beef cows into recipients with normal estrous cycles. **Biology of Reproduction**, v. 49, p. 617-621, 1993.

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

SOLANO, R.F.; TORRES-JUNIOR, J.R.S.; SOLANO, G.O. Avaliação das perdas embrionárias em receptoras de embriões bovinos através do retorno ao estro e concentrações plasmáticas de progesterona. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 28, n. 2, p. 78-83, 2004.

SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. **Animal Science**, v. 1, p. 93-104, 2001.

THATCHER, W.W.; BILBY, T.R.; BARTOLOME, J.A. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v. 65, p. 30-44, 2006.

THATCHER, W.W.; GUZELOGLU, A.; MATTOS, R. et al. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1435-1450, 2001a.

THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. et al. Effects of hormonal treatments of reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v. 55, p. 75-89, 2001b.

THATCHER, W.W.; BINELLI, M.; BURKE, J. et al. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. **Theriogenology**, v. 47, p. 131-140, 1997.

THATCHER, W.W.; STAPLES, C.R.; DANET-DESNOYERS, G. et al. Embryo health and mortality in sheep and cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 16-30, 1994.

THATCHER, W.W.; MACMILLAN, K.L.; HANSEN, P.J. et al. Factors affecting calf crop. Boca Ranton (Flórida): CRC Press Inc., Embryonic losses: cause and prevention, p. 135-154, 1994b.

THATCHER, W.W. Effects of season, climate, and temperature on reproduction and lactation. **Journal Dairy Science**, v. 57, p. 360-368, 1974.

VACA, L.A.; GALINA, C.; FERNÁNDEZ-BACA, S. et al. Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrous cycle in zebu cows. **Theriogenology**, v. 20, n. 1, p. 67-76, 1983.

VASCONCELOS, J.L.M. Controle do estro e da ovulação visando a inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de leite. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Departamento de Reprodução Animal – FMVZ/USP, p. 115-157, 2000.

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F. et al. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 51, n. 3, 1999.

WATHES, D.C.; REYNOLDS, T.S.; ROBINSON, R.S. et al. Role of insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1778-1789, 1998.

WATHES, D.C.; LAMMING, G.E. The oxytocin receptor, luteolysis and the maintenance of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 49, p. 53-57, 1995.

WEBB, R.; WOAD, K.J.; ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. **Domestic Animmal Endocrinology**, v. 23, p. 277-285, 2002.

WILSON, S.J.; MARION, R.S.; SPAIN, J.N. et al. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2124-2131, 1998a.

WILSON, S.J.; KIRBY, C.J.; KOENIGSFELD, A.T. et al. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2132-2138, 1998b.

WOLFENSON, D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L. et al. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 1106-1113, 1995.

CAPÍTULO 1

USO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST), NO DIA DO ESTRO, EM RECEPTORAS INOVULADAS COM EMBRIÕES BOVINOS À FRESCO

1. INTRODUÇÃO

A pecuária nacional no intuito de elevar a eficiência produtiva do rebanho tem buscado utilizar novas tecnologias no sentido de garantir um maior retorno econômico com a atividade. Desta maneira, a transferência de embriões (TE) tem assumido papel de destaque pela rápida multiplicação de material genético. Num programa de TE são dadas especiais atenções às doadoras, ao contrário das receptoras que são relegadas a segundo plano (Fernandes, 1999), o que pode influenciar na baixa taxa de gestação de receptoras.

A progesterona (P_4) no início da gestação é responsável por estimular as secreções endometriais fundamentais ao desenvolvimento embrionário (Mann et al., 1995). Além disso, a elevação nas concentrações circulatórias desse esteróide pode compensar um defeito na assincronia entre o ambiente uterino e os fatores endócrinos indispensáveis ao crescimento embrionário (Thatcher et al., 1994a).

Estudos têm relatado há uma correlação positiva entre a concentraçao de P_4 no plasma sangüíneo materno e a síntese de interferon-tau (IFN-τ) pelo embrião, fator essencial no reconhecimento da gestação (Mann & Lamming, 2001; Kerbler et al., 1997; Mann et al., 1995).

Com o objetivo de evitar perdas embrionárias, autores tem sugerido a utilização somatotropina bovina recombinante (rbST), o que poderia interferir, indiretamente, no processo de luteólise, e auxiliar no reconhecimento materno da gestação, atuando no corpo lúteo, no útero e no embrião. Entretanto, existem poucos estudos sobre a utilização da rbST em receptoras de embriões com a finalidade de elevar a taxa de gestação.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da administração de 500 mg de rbST no dia do estro de receptoras de embriões à fresco sobre a concentração sérica de progesterona e a taxa de gestação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização e Período

O experimento foi realizado em propriedades da região de Alfenas - MG, em parceria com a empresa de Biotecnologia e Treinamento em Reprodução Animal (Biotran). A cidade de Alfenas está situada na latitude sul 21º 25’ 45”, longitude oeste 45º 56’50” e altitude 881 metros. Segundo a classificação Köeppen, o clima é considerado CWA (temperatura moderada com verão quente e chuvoso), com temperaturas médias anuais entre 21 - 23ºC e regime de chuvas com média de 1600 mm/ano.

As coletas de embriões, inovulações e administrações da somatotropina bovina recombinante (rbST) foram realizadas no período de 28 de setembro de 2005 à 07 de junho de 2006.

2.2. Animais

2.2.1. Doadoras de Embriões

Foram utilizadas 16 doadoras para TE, sendo doze da raça Guzerá, três Red Angus e uma Simental Sul-africano, todas com peso corporal acima de 500 Kg. Os animais selecionados apresentavam-se ciclando regularmente (21±3 dias), com

histórico de boa fertilidade, e submetidas a exames ginecológicos por palpação trans-retal, vaginoscopia e ultra-sonografia.

As doadoras apresentavam boa condição corporal com escore maior que 3 para os animais *Bos taurus* (numa escala de um a cinco, segundo Ferreira, 1990) e entre 4 e 6 (numa escala de um a nove, segundo Dias, 1991) para as fêmeas *Bos indicus*. Os animais foram mantidos em piquetes de capim braquiária (*Brachiaria brizanta*), e suplementados para atender as exigências nutricionais, segundo o NRC (2001).

A detecção de estro foi realizada por observação visual e com auxílio de rufiões.

2.2.1.1. Superovulação e Inseminação

O tratamento das doadoras teve início, em dias pré-determinados pela empresa Biotran, com a aplicação de dispositivo intra-vaginal de progesterona (CIDR® - Pfizer). No dia seguinte foi administrado 3 mg de benzoato de estradiol (RIC-BE® - Syntex Especialidade Veterinária) por via intra-muscular, para induzir a regressão de um possível folículo dominante e dar início ao crescimento de nova onda folicular.

Completados cinco dias da aplicação do dispositivo de P_4, deu-se início ao protocolo de superovulação, com a administração de doses decrescentes de FSH (Folltropin-V® - Vethrepharm Inc), em intervalos de 12 horas, perfazendo um total de 8 aplicações (concentração total variando de 140 à 200 UI). Juntamente com a 7ª e 8ª aplicações de FSH, foi injetado 0,530 mg de cloprostenol sódico (Ciosin® - Schering Plough Brasil Ltda.) para a indução da luteólise. Concomitante a 8ª aplicação, foi removido o implante de progesterona.

Após o início do estro foi administrada 0,0084 mg de acetato de buserelina (Gestran® - Syntex Especialidade Veterinária), e realizadas duas inseminações, a primeira 10 a 12 horas e a segunda 20 a 24 horas após o início do estro.

2.2.1.2. Coleta, Manipulação, Avaliação e Distribuição dos Embriões

As coletas de embriões foram realizadas no sétimo dia após o estro, pelo método não cirúrgico, utilizando-se um cateter de foley (n° 18 ou 20), e para o lavado a solução PBS (Phosphate Buffer Saline) de Dulbecco & Vogt, modificado por Whittinghan (1971). Os embriões provenientes dos lavados uterinos foram

recuperados com o auxílio de um filtro com malha de 80 micra (0,08 mm), para posteriormente serem manipulados.

O material coletado foi rasteado para identificação dos embriões com auxílio de um microscópio estereoscópico. Depois de identificados, foram transferidos para uma placa de Petri de 35 mm de diâmetro, contendo solução de manipulação (TQC Holding® - AB Technology USA), e posteriormente, classificados quanto a qualidade (Kennedy et al., 1983) e o estádio de desenvolvimento embrionário (Lindner & Wright, 1983).

Os embriões classificados foram envasados em palhetas de 0,25 mL em meio PBS identificadas, e mantidos ao abrigo de luz solar e vento até o momento da inovulação. Os embriões provenientes de uma mesma coleta foram distribuídos igualmente entre os tratamentos.

As doadoras utilizadas no experimento receberam de 0,530 à 1,060 mg de cloprostenol sódico logo após a coleta, dependendo da respostas superovulatória da doadora, afim de induzir a regressão dos corpos lúteos.

2.2.2. Receptoras de Embrião

2.2.2.1. Seleção

Foram utilizadas 144 receptoras de embrião mestiças (vacas e novilhas), com bom escore corporal (escore entre 3 e 4), numa escala de um a cinco (Ferreira, 1990), e peso corporal acima de 350 Kg. As receptoras foram alojadas em piquetes em regime de pastejo, predominantemente de capim braquiária (*Brachiaria brizanta*), com fornecimento de sal mineral e água *ad libitum*.

As receptoras foram selecionadas após a observação da manifestação de dois estros consecutivos com intervalo de 21±3 dias, e submetidas a rigoroso exame ginecológico por palpação, via transretal, e vaginoscopia, visando à detecção clínica de problemas reprodutivos.

2.2.2.2. Sincronização do Estro e Aplicação da rbST

As receptoras que se encontravam entre o 7° e 17° dia do ciclo estral receberam a aplicação de 0,530 mg de cloprostenol sódico (Ciosin® - Schering Plough Brasil Ltda.), via intra-muscular, 24 horas antes da aplicação da mesma droga nas doadoras.

A detecção do estro destes animais foi realizada visualmente, com o auxílio de rufiões, duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde), por um período mínimo de 30 minutos. Somente foram considerados em estro os animais que permaneceram imóveis ao reflexo de monta.

Os animais que apresentaram estro receberam ou não a aplicação de 500 mg rbST (Somatotropina Bovina Recombinante - Boostin® - Schering Plough Brasil Ltda.), conforme o tratamento, por via subcutânea na fossa ísqueo-retal.

2.2.2.3. Inovulações dos Embriões

Todas as receptoras pré-selecionadas passaram por um exame de palpação transretal para a avaliação da condição ovariana quanto à presença de corpo lúteo, no dia da inovulação.

Foram utilizados para as inovulações embriões classificados quanto à qualidade como I, II e III (excelente, bom e regular) e ao estádio de desenvolvimento entre mórula, blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido. Após classificados os embriões selecionados foram envasados em palhetas finas de 0,25 mL, as quais foram montadas em aplicadores (Hannover®), protegidos por camisa sanitária (Sanitarie Chemise - IMV®).

Os embriões foram inovulados pelo método transcervical (ou não cirúrgico), sendo que, após a passagem do inovulador pelo primeiro anel cervical, a camisa sanitária foi rompida e o aplicador introduzido de forma que o embrião fosse depositado no terço final do corno ipsilateral ao corpo lúteo.

2.2.2.4. Coleta de Sangue

As coletas de sangue para dosagem de progesterona foram realizadas no momento das inovulações dos embriões, em tubos vacuolizados de 10 mL, sem anticoagulante, via punção da artéria ou veia coccígea. Após a obtenção de 3 mL de sangue os tubos foram estocados em isopor à temperatura de 5 à 8°C por, no máximo, 48 horas até o momento da centrifugação, realizada a 1700 G, por 10 minutos, para completa separação do soro. Posteriormente, o soro foi recuperado com auxílio de pipeta automática e transferido para microtubos (*eppendorfs*) identificados e estocados a temperatura de -20°C, para posterior análise.

2.3. Distribuição dos Animais Experimentais

As receptoras foram distribuídas aleatoriamente em dois tratamentos:

(T1) Controle: 77 receptoras não tratadas e inovuladas com embriões à fresco.

(T2) 500 mg de rbST: 67 receptoras tratadas com 500 mg de rbST (Somatotropina Bovina Recombinante - Boostin® - Schering Plough Brasil Ltda.) no momento do estro e inovuladas com embriões à fresco.

2.4. Análise de Progesterona

As amostras de soro sangüíneo foram submetidas a análise de progesterona utilizando-se o Kit comercial de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida (Coat-a-count progesterone kit, DPC, Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA, USA), no Laboratório de Preparo de Amostras e Radioimunoensaio da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Gado de Leite (Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite - CNPGL), situado em Coronel Pacheco - MG. Foi realizada a análise em duplicata, utilizando-se a média simples das duas leituras.

2.5. Diagnóstico de Gestação

Os diagnósticos de gestações foram realizados 30 dias após o estro das receptoras, por meio de exames ultra-sonográficos utilizando-se aparelho portátil, marca Pie Medical, modelo Scaner 100 Falco, que opera com um sistema de ultra-sonografia de varredura linear em tempo real, munido de um transdutor para avaliação endo-retal bifrequencial 6/8 Mhz. As taxas de gestações segundo a qualidade embrionária estão descritas no apêndice (Tabela 1).

2.6. Análise Estatística

A característica qualitativa taxa de gestação foi arranjada em tabela de contingência e posteriormente submetida à análise pelo teste de Qui-quadrado, a 5% de probabilidade de erro.

A variável quantitativa concentração de progesterona foi submetida aos testes de Normalidade (Lillefors) e Homocedasticidade (Cochram e Bartlet). Posteriormente, os dados foram analisados utilizando o teste F, adotando-se 5% de probabilidade (SAEG, 1999).

3. RESULTADOS

As taxas de gestações das receptoras inovuladas com embriões à fresco foram: T1 = 32,5% (25/77) e T2 = 65,7% (44/67). Os valores observados por estes animais (controles e tratados) apresentaram diferença (P<0,01), conforme pode ser verificada na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. - Número de animais e taxas de gestações em receptoras inovuladas com embriões à fresco, tratadas ou não tratadas, com rbST (500 mg) no dia do estro.

Tratamentos	**N**	**Gestantes**	
		N	**%**
Controle (T1)	77	25	32,5[a]
rbST (T2)	67	44	65,7[b]

[a b] Houve diferença entre os animais dos tratamentos (P<0,01) pelo teste de Qui-quadrado.

As concentrações médias de progesterona para as receptoras de embrião dos grupos controle e tratadas com 500 mg de rbST foram similares tanto para as receptoras gestantes quanto não gestantes (Tabela 1.2.), não sendo observada diferença (P>0,05) entre os animais do mesmo tratamento.

Tabela 1.2. - Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras gestantes e não gestantes, segundo o tratamento

Tratamentos	**Progesterona (P_4) (ng/mL)**	
	Gestantes (n)*	**Não Gestantes (n)**
Controle (T 1)	2,91 ± 0,30 (13)	2,24 ± 0,27 (16)
rbST (T 2)	2,12 ± 0,21 (19)	2,60 ± 0,31 (09)

* Valores representam a concentração média ± desvio padrão

Não houve diferença entre animais gestantes e não gestantes do mesmo tratamento (P>0,05) pelo teste F

Os coeficientes de variações são elevados para as concentrações séricas de progesterona de ambos os tratamentos, demonstrando a grande variabilidade na concentração de P_4 das amostras.

As concentrações de progesterona entre os animais controles (T1) e tratados (T2) para embriões à fresco (Tabela 1.3.), independentes do estado gestacional, não foram diferentes (P>0,05).

Tabela 1.3. - Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras gestantes e não gestantes, para embriões à fresco, segundo o tratamento

Tratamentos	**N**	**Progesterona (P_4)* (ng/mL)**
Controle (T 1)	29	2,54 ± 0,19
rbST (T 2)	28	2,27 ± 0,20

* Valores representam a concentração média ± desvio padrão

Não houve diferença entre os animais dos tratamentos (P>0,05) pelo teste F

4. DISCUSSÃO

Resultados similares aos encontrados para taxa de gestação no grupo tratado no presente estudo foram obtidos por Fonseca et al. (2001ab). A administração de 500 mg de rbST no quinto dia após o estro em novilhas receptoras apresentaram taxas de gestações de 60% (Fonseca et al., 2001a) e 62,5% (Fonseca et al., 2001b). Estes autores não observaram diferenças entre os animais controles e tratados com rbST. A administração de 500 mg de rbST no momento da inovulação também não foi capaz de incrementar a taxa de gestação de novilhas (67,8%; Hasler et al., 2003). Segundo estes autores, a ausência de efeito positivo da rbST sobre a taxa de gestação se deve ao tratamento não ter ocorrido durante o primeira semana após o estro, o que poderia promover uma melhorar na função e no ambiente uterino. Da mesma maneira, ao ser administrada 250 mg de rbST no dia do estro de novilhas foi obtida taxa de gestação de 46,6%, não sendo observado incremento na taxa de gestação (Haas, 2004).

Bilby et al. (1999) observaram diferença (P<0,01) entre a taxa de gestação de novilhas (46,1%) quando comparada a vacas (51,9%). Entretanto, ao serem comparadas as taxa de gestação dos animais tratados (48,9%) com os controles

(47,5%) não se observou diferença entre os tratamentos, esta ausência de feito positivo sobre a taxa de gestação pode estar associada a baixa dose utilizada no momento do estro.

O aumento na concentração sérica de bST e IGF-I foi observado após a administração de 500 mg de rbST, o mesmo não ocorrendo ao serem utilizadas a dose de 200 mg, o que comprova a influência da dose de rbST sobre a concentração sérica de bST e IGF-I nos 14 dias subsequentes à administração do hormônio (Bilby et al., 1999), período este crítico para sobrevivência embrionária. Também verificaram que a administração de baixa dose de rbST (167 mg) promoveu uma pequena elevação nas concentrações de bST e IGF-I, porém observaram um pequeno aumento na taxa de gestação de vacas, mas não em novilhas. Esta condição poderia ter ocorrido devido à baixa concentração circulante desses hormônios não serem capazes de atingirem o lume uterino e exercerem seus efeitos sobre o desenvolvimento embrionário. Corroborando, Thatcher et al. (2006) ao administrarem 500 mg de bST em vacas, observaram maior concentração plasmática de IGF-I de vacas gestantes (261±18 ng/mL) quando comparadas com vacas não gestantes (211±17 ng/mL), sendo que esta diferença pode ter contribuido para o estabelecimento da gestação, por conseqüência um aumento no desenvolvimento embrionário. No entanto, a aplicação de 25 mg/dia de rbST do estro até o décimo sexto dia do ciclo estral não proporcionou aumento na concentração de IGF-I no lúmen uterino de vacas gestantes, apesar de incrementar a taxa de gestação em 12,5% (Lucy et al., 1995).

A ação da rbST, IGF-I ou ambos, promovem uma aceleração no crescimento embrionário e aumento no número de células trofoblásticas resultando em aumento na secreção de IFN-τ pelo embrião (Moreira et al., 2000), o qual acarreta uma inibição no processo de luteólise (Mann & Lamming, 2001), levando ao incremento na taxa de gestação. Corroborando, o aumento na concentração de IFN-τ encontrada no fluido uterino foi observado após a administração de 500 mg de bST (Thatcher et al., 2006).

Adicionalmente, receptores para bST e IGF-I estão presentes no endométrio de vacas (Wathes et al., 1998) e em alta concentração nas glândulas endometriais sugerindo uma função para o IGF-I na regulação da atividade secretória da glândula (Moreira et al., 2002). Portanto, o aumento nas concentrações de IGF-I e bST circulantes em conseqüência do tratamento com rbST pode estimular a atividade

secretória das glândulas endometriais e melhorar o ambiente uterino, auxiliando assim na manutenção da gestação (Moreira et al., 2002). Além disso, o IFN-τ é responsável pela inibição da secreção de $PGF_{2\alpha}$ oriunda do tecido endometrial (Thatcher et al., 1997), via inibição das enzimas PKC, fosfolipase A_2, COX 2 ou inibindo receptores de OT e E_2 (Binelli, 2000). Corroborando, a administração de 500 mg de bST no estro promoveu a inibição da síntese de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) e conseqüente retardo no processo de luteólise no momento do reconhecimento materno da gestação, aumentando assim a taxa de gestação (Moreira et al., 2002).

Ainda que a administração de 500 mg de rbST no momento do estro não tenha promovido o incremento na concentração de progesterona no presente experimento, os resultados obtidos são corroborados pelos relatados por outros estudos. A administração de 500 mg de rbST no 5° dia do ciclo estral em novilhas receptoras (Fonseca et al., 2001b), ou no dia do estro de vacas em lactação receptoras de embrião (Morales-Roura et al., 2001), ou no momento da inseminação de novilhas leiteiras e vacas de leite ou corte em lactação (Starbuck et al., 2006) também não elevou a concentração deste esteróide. Corroborando, ao serem utilizadas novilhas receptoras de embrião tratadas com 250 mg de rbST no momento do estro, também não foi observada elevação na concentração de P_4 (Haas, 2004). Entretanto, vacas lactantes tratadas com 500 mg de bST no momento da inseminação e onze dias após, apresentaram uma diminuição na concentração de P_4 quando comparados aos animais controle, o que segundo os autores pode estar associado a um aumento na taxa de metabolismo induzido pela bST (Thatcher et al., 2006).

É provável que o dia do ciclo estral em que a rbST é aplicada também seja um fator responsável pelo aumento ou não da concentração sérica de progesterona. No presente experimento a administração da rbST realizada no dia do estro não promoveu incremento na concentração sérica de progesterona. Corroborando, estudos têm relatado a ausência de aumento na concentração de progesterona ao ser administrado somatotropina no momento do estro (Starbuck et al., 2006; Hass, 2004; Morales-Roura et al., 2001) ou no 5° dia do ciclo estral (Fonseca et al., 2001b).

Outro fator que pode ter influenciado na concentração sérica de progesterona após a administração de rbST é a categoria animal (Lucy et al., 1994), visto que foram utilizadas novilhas e vacas como receptoras. A ausência de efeito positivo da somatotropina sobre a concentração de progesterona de novilhas tem sido relatada

em diversos estudos (Starbuck et al., 2006; Hass, 2004; Fonseca et al., 2001b). Neste contexto, apesar da rbST elevar a concentração de IGF-I circulante (Bilby et al., 1999), incrementando a captação e absorção das lipoproteínas e estimulando a esteroidogênese pelas células da granulosa (Buhr, 1987). As novilhas apresentam quantidades limiares de bST e IGF-I circulantes (Lucy et al., 1994) não respondendo, consequentemente, ao tratamento com somatotropina. Entretanto, as vacas possuem baixa concentração de IGF-I circulante, podendo então responder ao tratamento com rbST (Thatcher et al., 2004), elevando a concentração sangüínea de progesterona em função do aumento do tamanho do CL e da ação estimulatória da IGF-I na esteroidogênese (Lucy et al., 1995).

5. CONCLUSÃO

A administração de 500 mg de rbST no dia do estro em receptoras inovuladas com embriões à fresco aumenta a taxa de gestação, mas não aumenta a concentração sérica de progesterona.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BILBY, C. R.; BADER, J. F.; SAEFEN, B. E.; YOUNGQUIST, R. S.; MURPHY, C. N.; GARVERICK, H. A.; CROOKER, B. A.; LUCY, M. C. Plasma GH, IGF-1, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. **Theriogenology**, v. 51, p. 1285-1296, 1999.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Departamento de Reprodução Animal – FMVZ/USP, p. 99-114, 2000.

BUHR, M. M. Effect of lipoproteins and luteinizing hormone on progesterone production by large and small luteal cells throughout the porcine estrus cycle. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1027-1031, 1987.

DIAS, F. M. G. N. **Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas.** 1991. 100p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1991.

FERNANDES, C. A. C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**., v. 51, n. 3, p. 263-266, 1999.

FERREIRA, A. M. **Efeito da amamentação e do nível nutricional na atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras**. Viçosa, MG: DZO, 1990. 134p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 1990.

FONSECA, J. F.; SILVA FILHO, J. M.; PINTO NETO, A.; PALHARES, M. S.; RUAS, J. R. M. Taxas de gestação de novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**., v. 53, n. 4, 2001a.

FONSECA, J. F.; SILVA FILHO, J. M.; PALHARES, M. S.; RUAS, J. R. M.; PINTO NETO, A. Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 4, 2001b.

HAAS, G. T. S. **Taxa de gestação e concentração sérica de progesterona em receptoras de embrião bovino tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST)**. Viçosa, MG: DVT, 2004. 38p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, 2004.

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.

KENNEDY, L. G.; BOLAND, M. P.; GORDON, I. The effect of embryo quality at freezing on subsequent development of thawed cow embryos. **Theriogenology**, v. 19, n. 6, p. 823-832, 1983.

KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.

LINDNER, G. M.; WRIGHT Jr., R. W. Bovine embryo morphology and evaluation. **Theriogenology**, v. 20, p. 407-416, 1983.

LUCY, M. C.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J.; SIMMEN, F. A.; KO, Y.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus,

and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 12, p. 73-82, 1995.

LUCY, M. C.; CURRAN, I. T.; COLLIER, R. J.; COLE, W. J. Extended function of the corpus luteum and advanced follicular development in heifers treated with bovine somatotropin. **Theriogenology**, v. 41, p. 561-572, 1994.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-180, 2001.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; FRAY, M. D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 121-131, 1995.

MORALES-ROURA, J. S.; ZARCO, L.; HERNÁNDEZ-CERÓN, J.; RODRIGUEZ, G. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. **Theriogenology**, v. 55, p. 1831-1841, 2001.

MOREIRA, F.; BADINGA, L.; BURNLEY, C.; THATCHER, W. W. Bovine somatotropin 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.

MOREIRA, F.; RISCO, C. A.; PIRES, M. F. .A.; AMBROSE, J. D.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1234-1247, 2000.

SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA (SAEG), U.F.V., Central de Processamento de Dados, Viçosa-MG, 1999.

STARBUCK, M. J.; KEITH INSKEEP, E.; DAILEY, R. A. Effect of a single growth hormone (rbST) treatment at breeding on conception rates and pregnancy retention in dairy and beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 93, p. 349-359, 2006.

THATCHER, W. W.; BILBY, T. R.; BARTOLOME, J. A. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v. 65, p. 30-44, 2006.

THATCHER, W. W.; BILBY, T.; GUZELOGLU, A.; STAPLES, C. R. Utilização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) como estratégia para aumentar a taxa de prenhez em vacas leiteiras em lactação. In: NOVOS ENFOQUES NA

PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS. 2004, Uberlândia, MG. **Anais…** Uberlândia: p. 3-17, 2004.

THATCHER, W. W.; BINELLI, M.; BURKE, J.; STAPLES, C. R.; AMBROSE, J. D.; COELHO, S. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. **Theriogenology**, v. 47, p. 131-140, 1997.

THATCHER, W. W.; STAPLES, C. R.; DANET-DESNOYERS, G.; OLDICK, B.; SCHMITT, E.P. Embryo health and mortality in sheep and cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 16-30, 1994.

WATHES, D. C.; REYNOLDS, T. S.; ROBINSON, R. S.; STEVENSON, K. R. Role of insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1778-1789, 1998.

WHITTINGHAM, D. G. Culture of mouse ova. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 48, p. 7-21, 1971.

CAPÍTULO 2

USO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (rbST), NO DIA DO ESTRO, EM RECEPTORAS INOVULADAS COM EMBRIÕES BOVINOS DESCONGELADOS

1. INTRODUÇÃO

A mortalidade embrionária precoce é reconhecidamente a maior causa de subfertilidade na espécie bovina (Sreenan et al., 2001). O estabelecimento e manutenção da gestação, bem como o crescimento embrionário em bovinos estão relacionados com a capacidade do corpo lúteo de secretar progesterona (Staples & Hansel, 1961). Desta forma, estudos utilizando somatotropina bovina recombinante (rbST) visam avaliar a sua influencia na secreção de progesterona pelo corpo lúteo e, consequentemente, melhorar a taxa de gestação. Entretanto, a administração de rbST em vacas lactantes tem sido associado a diminuição na eficiência reprodutiva do rebanho (Moreira et al., 2002).

A rbST tem ação sobre os ovários aumentando a população de folículos antrais recrutados (Buratini Jr. et al., 1999), controlando o crescimento folicular e a função do corpo lúteo (Lucy et al., 1993). No útero, estimula a atividade secretória das glândulas endometriais (Thatcher et al., 2001b) e no embrião melhora o desenvolvimento e sobrevivência embrionária (Moreira et al., 2002). A liberação de fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) pelo fígado, em resposta ao tratamento com rbST, tem desempenhado papel importante no reconhecimento materno da gestação (Lucy et al., 1995), por promover um maior desenvolvimento

embrionário, aumentando o número de células por embrião e resultando em maior secreção de interferon-tau (IFN-τ) (Wathes et al., 1998), fator essencial no reconhecimento materno da gestação (Mann & Lamming, 2001; Kerbler et al., 1997; Mann et al., 1995).

Estudos têm demonstrado que a administração de 500 mg de rbST um dia após o estro em vacas lactantes receptoras inovuladas com embriões descongelados causam elevação da taxa de gestação (Moreira et al., 2002; Thatcher et al., 2001b). Entretanto, existem poucos estudos demonstrando o efeito da terapia com diferentes doses de rbST na concentração de progesterona e na taxa de gestação de receptoras de embriões criopreservados.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da administração de 250 e 500 mg de rbST no dia do estro de receptoras bovinas inovuladas com embriões descongelados sobre a concentração sérica de progesterona e a taxa de gestação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização e Período

O experimento foi realizado em propriedades da região de Alfenas - MG, em parceria com a empresa de Biotecnologia e Treinamento em Reprodução Animal (Biotran). A cidade de Alfenas está situada na latitude sul 21º 25’ 45”, longitude oeste 45º 56’50” e altitude 881 metros. Segundo a classificação Köeppen, o clima é considerado CWA (temperatura moderada com verão quente e chuvoso), com temperaturas médias anuais entre 21 - 23 ºC e regime de chuvas com média de 1600 mm/ano.

As coletas de embriões, inovulações e administrações da somatotropina bovina recombinante (rbST) foram realizadas no período de 28 de setembro de 2005 à 07 de junho de 2006.

2.2. Animais

2.2.1. Doadoras de Embriões

Foram utilizadas 16 doadoras para TE, sendo três da raça Guzerá e treze Red Angus, todas com peso corporal acima de 500 Kg. Os animais selecionados apresentavam-se ciclando regularmente (21±3 dias), com histórico de boa fertilidade

e submetidas a exames ginecológicos por palpação trans-retal, vaginoscopia e ultra-sonografia.

As doadoras apresentavam boa condição corporal com escore maior que 3 para os animais *Bos taurus* (numa escala de um a cinco, segundo Ferreira, 1990), e entre 4 e 6 (numa escala de um a nove, segundo Dias, 1991) para as fêmeas *Bos indicus*. Os animais foram mantidos em piquetes de capim braquiária (*Brachiaria brizanta*), e suplementados para atender as exigências nutricionais, segundo o NRC (2001).

A detecção de estro foi realizada por observação visual e com auxílio de rufiões.

2.2.1.1. Superovulação e Inseminação

O tratamento das doadoras teve início, em dias pré-determinados pela empresa Biotran, com a aplicação de dispositivo intra-vaginal de progesterona (CIDR® - Pfizer). No dia seguinte foi administrado 3 mg de benzoato de estradiol (RIC-BE® - Syntex Especialidade Veterinária) por via intra-muscular, para induzir a regressão de um possível folículo dominante e dar início ao crescimento de nova onda folicular.

Completados cinco dias da aplicação do dispositivo de P_4, deu-se início ao protocolo de superovulação, com a administração de doses decrescentes de FSH (Folltropin-V® - Vethrepharm Inc), a intervalos de 12 horas entre as aplicações, perfazendo um total de 8 aplicações (concentração total variando de 140 a 200 UI). Juntamente com a 7ª e 8ª aplicações de FSH, foi induzida a luteólise com 0,530 mg de cloprostenol sódico (Ciosin® - Schering Plough Brasil Ltda.). Concomitante a 8ª aplicação, foi removido o implante de progesterona.

Após o início do estro foi administrada 0,0084 mg de acetato de buserelina (Gestran® - Syntex Especialidade Veterinária), e realizadas duas inseminações, a primeira 10 a 12 horas e a segunda 20 a 24 horas após o início do estro.

2.2.1.2. Coleta, Manipulação, Avaliação, Criopreservação e Distribuição dos Embriões

As coletas de embriões foram realizadas no sétimo dia após o estro, pelo método não cirúrgico, utilizando-se um cateter de foley (n° 18 ou 20), e para o lavado a solução PBS (Phosphate Buffer Saline) de Dulbecco & Vogt, modificado

por Whittinghan (1971). Os embriões provenientes dos lavados uterinos foram recuperados com o auxílio de um filtro com malha de 80 micra (0,08 mm), para posterior manipulação.

O material coletado foi rasteado para identificação dos embriões com auxílio de um microscópio estereoscópico. Depois de identificados, foram transferidos para uma placa de Petri de 35 mm de diâmetro, contendo solução de manipulação (TQC Holding® - AB Technology USA), e posteriormente, classificados quanto a qualidade (Kennedy et al., 1983) e o estádio de desenvolvimento embrionário (Lindner & Wright, 1983).

Os embriões de qualidade I e II que excediam o número de receptoras foram acondicionados em palhetas de 0,25 mL com solução de etileno-glicol (TQC Etileno Glicol® - AB Technology USA), e cripreservados utilizando equipamento Freeze Control® (Cryologic - Austrália). Os embriões provenientes de uma mesma coleta foram distribuídos igualmente entre os tratamentos.

As doadoras utilizadas no experimento receberam a administração de 0,530 à 1,060 mg de cloprostenol sódico logo após a coleta, dependendo da respostas superovulatória da doadora, afim de induzir a regressão dos corpos lúteos.

2.2.2. Receptoras de Embrião

2.2.2.1. Seleção

Foram utilizadas 115 receptoras de embriões mestiças (vacas e novilhas), com bom escore corporal (escore entre 3 e 4), numa escala de um a cinco (Ferreira, 1990), e peso corporal acima de 350 Kg. As receptoras foram alojadas em piquetes em regime de pastejo, predominantemente de capim braquiária (*Brachiaria brizanta*), com fornecimento de sal mineral e água *ad libitum*.

As receptoras foram selecionadas após a observação da manifestação de dois estros consecutivos com intervalo de 21±3 dias, e submetidas a rigoroso exame ginecológico por palpação via transretal, e vaginoscopia, visando à detecção clínica de problemas reprodutivos.

2.2.2.2. Sincronização do Estro e Aplicação da rbST

As receptoras que se encontravam entre o 7° e 17° dia do ciclo estral receberam a aplicação de 0,530 mg de cloprostenol sódico (Ciosin® - Schering

Plough Brasil Ltda.), via intra-muscular, 24 horas antes da aplicação da mesma droga nas doadoras.

A detecção do estro destes animais foi realizada visualmente, com o auxílio de rufiões, duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde), por um período mínimo de 30 minutos. Somente foram considerados em estro os animais que permaneceram imóveis ao reflexo de monta.

Os animais que apresentaram estro receberam ou não a aplicação de 250 ou 500 mg rbST (Somatotropina Bovina Recombinante - Boostin® - Schering Plough Brasil Ltda.), conforme o tratamento, por via subcutânea na fossa ísqueo-retal.

2.2.2.3. Descongelamento e Inovulações dos Embriões

Todas as receptoras pré-selecionadas passaram por um exame de palpação transretal para a avaliação da condição ovariana quanto à presença de corpo lúteo, no dia da inovulação.

As palhetas com os embriões foram descongeladas seguindo a metodologia: mantidos ao ar (10 segundos), água a 32 °C (40 segundos), secas em papel toalha e, posteriormente, montadas em inovuladores (Hannover®), protegidas por camisa sanitária (Sanitarie Chemise - IMV®) e os embriões transferidos imediatamente.

Os embriões foram inovulados pelo método transcervical (ou não cirúrgico) e após a passagem do inovulador pelo primeiro anel cervical, a camisa sanitária foi rompida e o aplicador introduzido de forma que o embrião fosse depositado no terço final do corno ipsilateral ao corpo lúteo.

2.2.2.4. Coleta de Sangue

As coletas de sangue para dosagem de progesterona foram realizadas no momento das inovulações dos embriões, em tubos vacuolizados de 10 mL, sem anticoagulante, via punção da artéria ou veia coccígea. Após a obtenção de 3 mL de sangue os tubos foram estocados em isopor à temperatura de 5 à 8 °C por, no máximo, 48 horas até o momento da centrifugação, realizada a 1700 G, por 10 minutos, para completa separação do soro. Posteriormente, o soro foi recuperado com auxílio de pipeta automática e transferido para microtubos (*eppendorfs*) identificados e estocados a temperatura de -20 °C, para posterior análise.

2.3. Distribuição dos Animais Experimentais

As receptoras foram distribuídas em três tratamentos.

(T1) Controle: 53 receptoras não tratadas e inovuladas com embriões descongelados.

(T2) 250 mg de rbST: 22 receptoras tratadas com 250 mg de rbST (Somatotropina Bovina Recombinante - Boostin® - Schering Plough Brasil Ltda.) no momento do estro e inovuladas com embriões descongelados.

(T3) 500 mg de rbST: 40 receptoras tratadas com 500 mg de rbST (Somatotropina Bovina Recombinante - Boostin® - Schering Plough Brasil Ltda.) no momento do estro e inovuladas com embriões descongelados.

2.4. Análise de Progesterona

As amostras de soro sangüíneo foram submetidas a análise de progesterona utilizando-se o Kit comercial de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida (Coat-a-count progesterone kit, DPC, Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA, USA), no Laboratório de Preparo de Amostras e Radioimunoensaio da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Gado de Leite (Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite - CNPGL), situado em Coronel Pacheco - MG. Foi realizada a análise em duplicata, utilizando-se a média simples das duas leituras.

2.5. Diagnóstico de Gestação

Os diagnósticos de gestações foram realizados 30 dias após o estro das receptoras, por meio de exames ultra-sonográficos utilizando-se aparelho portátil, marca Pie Medical, modelo Scaner 100 Falco, que opera com um sistema de ultra-sonografia de varredura linear em tempo real, munido de um transdutor para avaliação endo-retal bifrequencial 6/8 Mhz. As taxas de gestações segundo a qualidade embrionária estão descritas no apêndice (Tabela 2).

2.6. Análise Estatística

A característica qualitativa taxa de gestação foi arranjada em tabela de contingência e posteriormente submetida à análise pelo teste de Qui-quadrado, a 5% de probabilidade de erro.

A variável quantitativa concentração de progesterona foi submetida aos testes de Normalidade (Lillefors) e Homocedasticidade (Cochram e Bartlet).

Posteriormente, os dados foram analisados utilizando o teste F, adotando-se 5% de probabilidade (SAEG, 1999).

3. RESULTADOS

As taxas de gestações dos animais que receberam embriões descongelados foram: T1 = 45,3% (24/53), T2 = 50,0% (11/22) e T3 = 52,5% (21/40). O uso de 250 ou 500 mg de rbST não influenciou na taxa de gestação (P>0,05) conforme se verifica na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. - Número de animais e taxas de gestações em receptoras inovuladas com embriões descongelados, tratadas ou não tratadas, com 250 ou 500 mg de rbST no dia do estro.

Tratamentos	**N**	**Gestantes***	
		N	**%**
Controle (T1)	53	24	45,3
250 mg rbST (T2)	22	11	50,0
500 mg rbST (T3)	40	21	52,5

* Não houve diferença entre os animais dos tratamentos (P>0,05) pelo teste de Qui-quadrado.

As concentrações médias de progesterona sérica para as receptoras de embriões descongelados foram similares tanto para as gestantes quanto não gestantes (Tabela 2.2.), não observando diferença (P>0,05) entre os animais do mesmo tratamento.

Tabela 2.2. – Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras gestantes e não gestantes, tratadas ou não com 250 ou 500 mg de rbST.

Tratamentos	**Progesterona (P_4) (ng/mL)**	
	Gestantes (n)*	**Não Gestantes (n)**
Controle (T 1)	5,96 ± 0,66 (11)	5,03 ± 0,55 (16)
250 mg rbST (T 2)	5,46 ± 0,66 (11)	6,08 ± 0,66 (11)
500 mg rbST (T3)	4,94 ± 0,69 (10)	4,48 ± 0,89 (06)

* Valores representam a concentração média ± desvio padrão.
Não houve diferença entre animais gestantes e não gestantes do mesmo tratamento (P>0,05) pelo teste F.

Ao serem analisadas as concentrações de progesterona entre os animais controle (T1), tratados 250 mg (T2) e 500 mg de rbST (T3), independentemente do estado gestacional, não foram observadas diferenças (P>0,05), como demonstrado na Tabela 2.3.

Tabela 2.3. - Concentrações médias de progesterona sérica (ng/mL) no dia das inovulações em receptoras, tratadas ou não, com 250 ou 500 mg de rbST, independentemente do estado gestacional.

Tratamentos	**N**	**Progesterona (P_4)* (ng/mL)**
Controle (T 1)	27	5,41 ± 2,33
250 mg rbST (T 2)	17	5,77 ± 2,19
500 mg rbST (T3)	16	4,77 ± 1,78

* Valores representam a concentração média ± desvio padrão.
Não houve diferença entre os animais dos tratamentos (P>0,05) pelo teste F.

4. DISCUSSÃO

Os resultados encontrados neste experimento diferem dos encontrados por Moreira et al. (2002), os quais trabalharam com vacas lactantes e submetidas a terapia de 500 mg de bST um dia após o estro e, posteriormente, a cada 14 dias, observando taxa de gestação 17,7% superior (P<0,05) para as receptoras inovuladas

com embriões descongelados e tratadas com bST quando comparadas aos animais não tratados (Moreira et al., 2002).

As doses de 250 ou 500 mg de rbST podem ter sido suficientes para incrementar as concentrações de IGF-I e bST circulantes, entretanto, sem apresentarem efeitos positivos sobre as taxas de gestação. Deste modo, apesar de um possível efeito benéfico da rbST sobre a produção de IFN-τ, provavelmente, lesões promovidas nas células trofoblásticas durante o processo de criopreservação tenham resultado em uma baixa capacidade no incremento da secreção de IFN-τ. Estudo comparando a capacidade de secreção de IFN-τ de embriões à fresco e descongelados, provenientes de fertilização *in vitro*, relata uma menor concentração deste interferon em cultivo de embriões criopreservados (Araújo et al., 2005). O processo de criopreservação é capaz de comprometer a viabilidade das células trofoblásticas e, consequentemente, a capacidade de secretar IFN-τ, devido a traumatismos sofridos pelas células ao longo do processo (Stojkovic et al., 1995), comprometendo assim os sinais para o reconhecimento materno da gestação (Lonergan et al., 2003).

Ao ser avaliada a taxa de clivagem de embriões criopreservados cultivados em estufa, foi observado um menor número de células embrionárias (Pinheiro, 1997) quando comparados ao cultivo de embriões à fresco (Farin et al., 1995). Esta menor taxa de clivagem observada para embriões descongelados pode ter sido decorrente do processo de criopreservação (Pinheiro, 1997), visto que este processo pode induzir anormalidades para a organização celular do embrião (Dobrinsky, 1996).

Adicionalmente, a ausência de diferença na taxa de gestação entre tratamentos também pode ser devido a serem utilizadas apenas estruturas de qualidade I e II.

Os resultados deste estudo demonstram que as concentrações séricas de progesterona, no dia da inovulação, não se elevaram ($P>0,05$), após a administração de 250 ou 500 mg de rbST, no momento do estro. Resultados similares aos obtidos no presente estudo pelos animais controles gestantes foram obtidos por Drost et al. (1999) ao trabalharem com vacas lactantes. Desta maneira, as concentrações de progesterona sérica, provavelmente, não tenham sido influenciadas pelo dia de administração ou pela concentração de rbST (Haas, 2004; Lucy et al., 1994), visto que a administração de 250 mg (Haas, 2004) ou 500 mg de rbST no estro (Starbuck

et al., 2006) ou de 500 mg de rbST no 5° dia do ciclo estral (Fonseca et al., 2001b) não elevaram as concentrações deste esteróide.

A ausência de efeito positivo da rbST na concentração sérica de progesterona observada nos animais tratados, pode ser devido a somatotropina incrementar o metabolismo e o fluxo sangüíneo hepático e, com isso, promover um maior *clearance* hormonal (Thatcher et al., 2006).

A categoria animal também pode ter influenciado a concentração de progesterona (Lucy et al., 1994), devido ao fato de terem sido utilizadas novilhas e vacas como receptoras. A ausência de efeito positivo da somatotropina sobre a concentração de progesterona de novilhas tem sido relatada em diversos estudos (Starbuck et al., 2006; Hass, 2004; Fonseca et al., 2001b).

A liberação de IGF-I pelo fígado têm sido observada em resposta a ação da rbST (Lucy et al., 1995), aumentando-se a concentração de IGF-I circulante (Bilby et al., 1999). O IGF-I desempenha importante papel no sentido de incrementar a captação e absorção das lipoproteínas, e estimular a esteroidogênese pelas células da granulosa (Buhr, 1987), estimulando a síntese de progesterona (Borges et al., 2001a). As novilhas por apresentarem quantidades limiares de bST e IGF-I circulantes, não respondem, consequentemente, ao tratamento com somatotropina (Lucy et al., 1994). Entretanto, as vacas possuirem baixa concentração plasmática de IGF-I, podendo então responder ao tratamento com rbST (Thatcher et al., 2004), incrementando a esteroidogênese (Lucy et al., 1995).

5. CONCLUSÕES

A administração de 250 ou 500 mg de rbST no dia do estro em receptoras inovuladas com embriões descongelados não influenciam nas taxas de gestações e nas concentrações séricas de progesterona.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M. C. C.; VALE FILHO, V. R.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; BARRETO FILHO, J. B.; CAMARGO, L. S. A.; SERAPIÃO, R. V.; SILVA, M. V. G. B. Secreção de interferon-tau em embriões bovinos produzidos *in vitro* frescos e congelados, **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 57, n. 6, p. 751-756, 2005.

BILBY, C. R.; BADER, J. F.; SAEFEN, B. E.; YOUNGQUIST, R. S.; MURPHY, C. N.; GARVERICK, H. A.; CROOKER, B. A.; LUCY, M. C. Plasma GH, IGF-1, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. **Theriogenology**, v. 51, p. 1285-1296, 1999.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; JÚNIOR, V. R. R.; CARVALHO, G. R.; BORGES, J. C. Concentração plasmática de progesterona e metabólitos lipídicos em novilhas mestiças tratadas ou não com hormônio de crescimento e superovuladas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1689-1696, 2001a.

BUHR, M. M. Effect of lipoproteins and luteinizing hormone on progesterone production by large and small luteal cells throughout the porcine estrus cycle. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1027-1031, 1987.

BURATINI JR., J.; PRICE, C. A.; BÓ, G. A.; VISINTIN, J. A. Os efeitos do BST e da ablação do folículo dominante sobre o desenvolvimento folicular. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, supl., v. 27, n. 1, 1999.

DIAS, F. M. G. N. **Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas.** 1991. 100p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1991.

DOBRINSKY, J. R. Cellular approach to cryopreservation of embryos. **Theriogenology**, v. 45, p. 17-26, 1996.

DROST, M.; AMBROSE, J. D.; THATCHER, M. J.; CANTRELL, C. K.; WOLFSDORF, K. E.; HASLER, J. F.; THATCHER, W. W. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. **Theriogenology**, v. 52, p. 1161-1167, 1999.

FARIN, C. E.; HASLER, J. F.; MARTUS, N. S. Comparison of Menezo B2 and TCM-199 Media for *in vitro* production of bovine blastocysts. **Theriogenology**, v. 43, p. 210, 1995.

FERREIRA, A. M. **Efeito da amamentação e do nível nutricional na atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras**. Viçosa, MG: DZO, 1990. 134p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) - Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 1990.

FONSECA, J. F.; SILVA FILHO, J. M.; PALHARES, M. S.; RUAS, J. R. M.; PINTO NETO, A. Concentração plasmática de progesterona em novilhas

receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 4, 2001b.

HAAS, G. T. S. **Taxa de gestação e concentração sérica de progesterona em receptoras de embrião bovino tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbST)**. Viçosa, MG: DVT, 2004. 38p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, 2004.

KENNEDY, L. G.; BOLAND, M. P.; GORDON, I. The effect of embryo quality at freezing on subsequent development of thawed cow embryos. **Theriogenology**, v. 19, n. 6, p. 823-832, 1983.

KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.

LINDNER, G. M.; WRIGHT Jr., R. W. Bovine embryo morphology and evaluation. **Theriogenology**, v. 20, p. 407-416, 1983.

LONERGAN, P.; RIZOS, D.; GUTIÉRREZ-ADÁN, A.; MOREIRA, P. M.; PINTADO, B.; De La FUENTE, J.; BOLAND, M. P. Temporal divergence in the pattern of messenger RNA expression on bovine embryos cultured from the zygote to blastocyst stage in vitro or in vivo. **Biology of Reproduction**, v. 69, p. 1424-1431, 2003.

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

LUCY, M. C.; CURRAN, I. T.; COLLIER, R. J.; COLE, W. J. Extended function of the corpus luteum and advanced follicular development in heifers treated with bovine somatotropin. **Theriogenology**, v. 41, p. 561-572, 1994.

LUCY, C. M.; COLLIER, R. J.; KITCHELL, M. L.; DIBNER, J. J.; HAUSER, S. D.; KRIVI, G. G. Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. **Biology of Reproduction**, v. 48, p. 1219-1227, 1993.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-180, 2001.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; FRAY, M. D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 121-131, 1995.

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

PINHEIRO, E. F. **Desenvolvimento embrionário *in vitro* após a congelação e descongelação pelo método *one step,* utilizando o etilenoglicol associado com a sacarose.** Viçosa, MG: DVT, 1997. 24p. Dissertação (Especialização em Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, 1997.

SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA (SAEG), U.F.V., Central de Processamento de Dados, Viçosa-MG, 1999.

SREENAN, J. M.; DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. **Animal Science**, v. 1, p. 93-104, 2001.

STAPLES, R. E.; HANSEL, W. W. Luteal function and embryo survival in the bovine. **Journal Dairy Science**, v. 44, p. 2040-2048, 1961.

STARBUCK, M. J.; KEITH INSKEEP, E.; DAILEY, R. A. Effect of a single growth hormone (rbST) treatment at breeding on conception rates and pregnancy retention in dairy and beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 93, p. 349-359, 2006.

STOJKOVIC, M.; WOLF, E.; BUTTNER, M.; BERG, U.; CHARPIGNY, G.; SCHMITT, A.; BREM, G. Secretion of biologically active interferon tau by in vitro-derived bovine trophoblastic tissue. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 1500-1507, 1995.

THATCHER, W. W.; BILBY, T. R.; BARTOLOME, J. A. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v. 65, p. 30-44, 2006.

THATCHER, W. W.; BILBY, T.; GUZELOGLU, A.; STAPLES, C. R. Utilização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) como estratégia para aumentar

a taxa de prenhez em vacas leiteiras em lactação. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS. 2004, Uberlândia, MG. **Anais…** Uberlândia: p. 3-17, 2004.

THATCHER, W. W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J. E. P. Effects of hormonal treatments of reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v. 55, p. 75-89, 2001b.

WATHES, D. C.; REYNOLDS, T. S.; ROBINSON, R. S.; STEVENSON, K. R. Role of insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1778-1789, 1998.

WHITTINGHAM, D. G. Culture of mouse ova. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 48, p. 7-21, 1971.

III. CONCLUSÕES GERAIS

A administração de 250 ou 500 mg de rbST no dia do estro em receptoras inovuladas com embriões descongelados não influenciam nas taxas de gestações e nas concentrações séricas de progesterona.

A administração de 500 mg de rbST no dia do estro em receptoras inovuladas com embriões à fresco aumenta a taxa de gestação, mas não aumenta a concentração sérica de progesterona.

IV. APÊNDICE

Tabela 01. Distribuição dos embriões à fresco quanto às taxas de gestações de acordo com a qualidade embrionária.

Qualidade Embrionária	Gestantes	
	Controle	**500 de mg rbST**
Qualidade I	19,48% (15/77)	31,34% (21/67)
Qualidade II	11,69% (9/77)	28,36% (19/67)
Qualidade III	1,30% (1/77)	5,97% (4/67)

Tabela 02. Distribuição dos embriões descongelados quanto às taxas de gestações de acordo com a qualidade embrionária.

Qualidade Embrionária	Gestantes		
	Controle	**250 mg de rbST**	**500 mg de rbST**
Qualidade I	**33,96% (18/53)**	**27,27% (6/22)**	**41,18% (14/34)**
Qualidade II	**11,32% (6/53)**	**22,73% (5/22)**	**8,82% (3/34)**

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo