



## USO DE INDUTOR DA OVULAÇÃO EM PROTOCOLO DE SUPEROVULAÇÃO OVINA

OSCAR OLIVEIRA BRASIL<sup>1</sup>; NATHALIA HACK MOREIRA<sup>2</sup>; MAIRON ROCHA MODESTO<sup>3</sup>; PRISCILLA CRISTINI PASSONI SILVA<sup>4</sup>; BIANCA DAMIANI MARQUES SILVA<sup>5</sup>; ALEXANDRE FLORIANI RAMOS<sup>6</sup>;  
*1,2.UNB, BRASÍLIA, DF, BRASIL; 3,4.FACIPLAC, BRASÍLIA, DF, BRASIL; 5,6.EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, BRASÍLIA, DF, BRASIL;*  
[obrasilvet@gmail.com](mailto:obrasilvet@gmail.com)

**Resumo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da indução da ovulação sobre a resposta superovulatória e produção embrionária de ovelhas Santa Inês superovuladas. Dezenove ovelhas Santa Inês, foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais para receber ou não 25 µg de Lecirelina 24 horas após o final do protocolo de superovulação. A inseminação artificial foi realizada por laparoscopia usando sêmen congelado. Os embriões foram coletados por laparotomia aos 5 dias após a inseminação. A maioria dos animais apresentou resposta superovulatória, demonstrando a eficiência de ambos os protocolos. Não houve diferença significativa na resposta superovulatória entre os tratamentos. No entanto a resposta superestimulatória e o total de estruturas coletadas foram maiores no grupo controle ( $16,9 \pm 6,6$  e  $10,6 \pm 7,0$ ) do que no grupo GnRH ( $10 \pm 2,3$  e  $4,7 \pm 3,1$ ). Apesar de uma melhor resposta do grupo controle observada nos parâmetros acima, não houve diferença quanto à taxa de ovulação e número de embriões viáveis, 73% versus 92% e  $2,8 \pm 3,7$  versus  $2,5 \pm 3,5$ , respectivamente. Conclui-se que GnRH administrado 24h após o final do tratamento superovulatório não melhorou a produção embrionária em ovelhas Santa Inês.

**Palavras-chave:** embrião, GnRH, lecirelina, superestimulação

### Introdução

A tecnologia de múltipla ovulação e transferência de embriões contribui para o melhoramento genético e preservação de raças ovinas em diversos países do mundo. No entanto, há uma variabilidade na resposta superovulatória e de colheita de embriões, que limita o sucesso dos programas de produção de embriões em ovinos. Isso é atribuído a uma série de fatores endógenos, como a genética, estado nutricional, condição folicular e estação do ano, e exógenos, tais como tratamento superovulatório, a natureza e possível "contaminação" da gonadotrofina. A maioria dos protocolos de superovulação consiste de 14 dias de exposição à progesterona, com 6 a 8 aplicações de FSH iniciadas, aproximadamente, dois dias antes da remoção do dispositivo de progesterona. O hormônio liberador de gonadotrofinas e seus análogos (GnRH) foi usado por alguns pesquisadores após a estimulação com



FSH, apresentando boa sincronia da ovulação e maior produção de embriões (WALKER et al., 1986; MENCHACA et al., 2009), apesar de relatos controversos (JABBOUR et al., 1996). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição do GnRH, como indutor de ovulação, sobre a resposta superovulatória e produção embrionária em ovelhas Santa Inês superovuladas.

### Material e Métodos

O Experimento foi desenvolvido no mês de abril de 2012 com 19 fêmeas Santa Inês, mantidas em pastejo de Mombaça (*Panicum maximum*) com água e sal mineral à vontade. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos para receber (n = 10) ou não (n = 9) indutor da ovulação no final do tratamento superovulatório. Foi inserido implante intravaginal (Eazi- Breed CIDR<sup>®</sup>, Pfizer, Nova Zelândia) no Dia 0, substituído por um novo no Dia 7 e mantido até o Dia 14. No D7 foi administrado 37,5 µg de d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, Tecnopec, ARSA S. R. L., Argentina), por via intramuscular. Para superestimulação, 133 mg de FSHp (Folltropin<sup>®</sup>, Tecnopec, Bioniche A. H. C. Inc., Canadá) foram aplicadas em 8 doses decrescentes, iniciando na manhã do dia 12. Associado a última dose de FSH foi administrado uma dose intramuscular de 25 µg de Lecirelina, análogo do GnRH (Gestran Plus<sup>®</sup>, Tecnopec, ARSA S. R. L., Argentina). O início do estro foi avaliado com auxílio de um rufião. As fêmeas tiveram os ovários avaliados, após a última aplicação de FSHp, por ultrassonografia transretal e utilizando transdutor de 7,5 MHz (Aloka SSD 500 Echo Camera, Overseas Monitor Corp. Ltd., Richmond, BC, Canadá). Os folículos tiveram o diâmetro mensurado, sendo quantificados e desenhados em mapas os  $\geq 4$  mm. As inseminações foram realizadas por laparoscopia, as 36 e 48 h após a retirada do CIDR, usando  $50 \times 10^6$  de sêmen fresco. Cinco dias após a primeira inseminação, o número de corpos lúteos (CL) foi mensurado por laparoscopia e os embriões foram coletados por laparotomia pré-púbica. Os CL foram classificados como normais ou prematuramente regredidos de acordo com a cor e condição de desenvolvimento. Para coleta de embriões cada corno uterino foi lavado com 60 mL de PBS suplementado com 10% de soro fetal bovino. Os embriões coletados foram classificados segundo as recomendações da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS). Os dados de produção de embrião e horário do estro estão apresentados em Média  $\pm$  Desvio Padrão ou Porcentagem. As variáveis que apresentaram ambas homocedasticidade e normalidades foram submetidas ao teste t de student, enquanto que as que não apresentaram foram submetidas ao teste de Wilcoxon. O percentual de ovelhas superovuladas foi avaliado pelo teste do  $\chi^2$ . Foi considerada diferença significativa quando o  $P < 0,05$ .



## Resultados e Discussão

Todas as ovelhas experimentais manifestaram sinais de estro até 37 horas após a remoção do implante de progesterona. No entanto o grupo controle antecipou significativamente o início do estro ( $20,8 \pm 5,5$ h), quando comparado ao grupo GnRH ( $25,2 \pm 7,5$ h), resultado que provavelmente não se deve a administração de GnRH ao final da estimulação ovariana com FSHp. Os resultados da resposta superovulatória e produção embrionária estão apresentados na Tabela 1. A maioria dos animais deste estudo exibiu uma resposta superovulatória, ou seja,  $> 2$  ovulações, demonstrando a eficiência de ambos os protocolos. Apenas uma ovelha (grupo controle), apresentou regressão prematura de corpo lúteo. Achados semelhantes foram verificados por Cordeiro et al. (2003) trabalhando com ovelhas Santa Inês. Não houve diferença significativa na resposta superovulatória entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Entretanto, a resposta superestimulatória e o total de estruturas coletas foram maiores no grupo controle ( $16,9 \pm 6,6$  e  $10,6 \pm 7,0$ ) do que no grupo GnRH ( $10 \pm 2,3$  e  $4,7 \pm 3,1$ ), não devendo estar associado ao tratamento uma vez que os protocolos superestimulatórios foram semelhantes.

Tabela 1. Efeito da administração de GnRH (24h após a remoção do CIDR) sobre a resposta ovulatória e produção de embriões em ovelhas Santa Inês superestimuladas com FSHp.

|                                              | GnRH (n = 10)   | Controle (n = 9) | P        |
|----------------------------------------------|-----------------|------------------|----------|
| Resposta das doadoras                        |                 |                  |          |
| Superovuladas ( $> 2$ CL)                    | 10/10 (100%)    | 8/9 (88,9%)      | NS       |
| Produção de embriões (doadoras com $> 2$ CL) |                 |                  |          |
| Número de folículos                          | $10 \pm 2,3^b$  | $16,9 \pm 6,6^a$ | $< 0,01$ |
| Número de CL                                 | $7,6 \pm 4,4$   | $16,3 \pm 8,0$   | NS       |
| Taxa de ovulação (%)                         | 73              | 92               | NS       |
| Total de estruturas                          | $4,7 \pm 3,1^b$ | $10,6 \pm 7,0^a$ | $< 0,05$ |
| Número de embriões viáveis (grau 1 a 3)      | $2,8 \pm 3,7$   | $2,5 \pm 3,5$    | NS       |
| Taxa de recuperação (%)                      | 60              | 63               | NS       |
| Taxa de fertilização (%)                     | 54              | 39               | NS       |

Apesar da menor resposta superestimulatória do tratamento com GnRH comparado ao grupo controle, não houve diferença quanto a taxa de ovulação e número de embriões viáveis, 73% versus 92% e  $2,8 \pm 3,7$  versus  $2,5 \pm 3,5$ , respectivamente. Contudo, esses dados diferem dos encontrados por Menchaca et al. (2009), que obtiveram aumento significativo no número de embriões viáveis com administração de GnRH ao fim do protocolo de superovulação. Segundo o mesmo autor o GnRH é responsável por sincronizar o momento da ovulação, fato também comprovado por Walker et al.



(1986) que observaram maior sincronia devido a redução do tempo entre a primeira e a última ovulação nas ovelhas superestimuladas. Um fato a ser considerado no presente trabalho, é que quando o GnRH foi administrado, a maioria das ovelhas já tinham manifestado sinais de estro, tornando desnecessário o emprego do mesmo, visto que as ovelhas já iriam apresentar a resposta endógena previamente a administração do indutor da ovulação. Os resultados de produção de embriões, para ambos os tratamentos, estão abaixo dos normalmente encontrados (MENCHACA et al., 2009), que provavelmente esta relacionada à baixa dose inseminante empregada neste Experimento, que não foi capaz de promover a fertilização da maioria dos ovócitos.

### Conclusão

O GnRH administrado em associação a última dose de FSHp, o que correspondeu a 24h após a remoção do CIDR, não melhorou os resultados de produção de embriões em ovelhas Santa Inês.

### Referências Bibliográficas

- CORDEIRO, M.F.; LIMA-VERDE, J.B.; LOPES-JÚNIOR, E.S.; TEIXEIRA, D.I.A.; FARIAS, L.N.; SALLES, H.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; RONDINA, D.; FREITAS, V.J.F. Embryo recovery rate in Santa Inês ewes subjected to successive superovulatory treatments with pFSH. **Small Ruminant Research**, v. 49, p.19–23, 2003
- JABBOUR, H.N.; RYAN J.P.; EVANS, G.; MAXWELL, W.M. Effects of season, GnRH administration and lupin supplementation on the ovarian and endocrine responses of merino ewes treated with PMSG and FSH-P to induce superovulation. **Reproduction, Fertility and Development**, v.3, p.699-707, 1996.
- MENCHACA, A.; VILARINÕ, M.; PINCZAK, A.; KMAID, S.; SALDAÑA, J.M. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and Day 0 Protocol for MOET programs in sheep. **Theriogenology**, v.72, p.477-483, 2009.
- WALKER, S.K.; SMITH, D.H.; SEAMARK, R.F. Timing of multiple ovulations in the after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. **Journal of Reproduction & Fertility**, v.77, p.135-142, 1986.