

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos**

**Otávio Saraiva Pires**

Pelotas, 2023

**Otávio Saraiva Pires**

**Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Reprodução e Patologia Animal).

Orientador: Prof. Dr. Rafael Gianella Mondadori  
Coorientador: Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

P667b Pires, Otávio Saraiva

Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos / Otávio Saraiva Pires ; Rafael Gianella Mondadori, orientador ; Bernardo Garziera Gasperin, coorientador. – Pelotas, 2023.

35 f.

Dissertação (Mestrado) – Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. GnRH. 2. Indução de ovulação. 3. Manipulação ciclo estral. 4. Ovelha. I. Mondadori, Rafael Gianella, orient. II. Gasperin, Bernardo Garziera, coorient. III. Título.

CDD : 636.30824

Otavio Saraiva Pires

Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 28/02/2023

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rafael Gianella Mondadori (Orientador)  
Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Brasília.

Prof. Dr. Sergio Farias Vargas Júnior.  
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Fernando Caetano de Oliveira  
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Gilson de Mendonça  
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer primeiramente a oportunidade em poder compartilhar momentos com todos que cruzaram meu caminho. Por destino ou casualidade, nesta caminhada, vivenciei experiências que me tornaram profissionalmente um pouco menos ignorante.

Agradeço a minha família por me oportunizar a formação acadêmica, sempre me dando suporte seja qual for minha escolha.

A minha companheira Thais, agradeço por me iluminar com sua luz radiante, estar comigo em todos os momentos. E por sua dedicação em organizar o meu eu mais desorganizado.

Agradeço aos meus sogros e a fazenda Santa Maria por abrirem sua propriedade e disponibilizarem seus animais para a realização dos experimentos.

Ao meu querido professor orientador Rafael Mondadori, primeiramente agradeço a amizade. Também à sua incansável busca em repassar aprendizagens e experiências na minha formação.

Agradeço ao meu coorientador Bernardo Gasperin, que me proporcionou ideias e linhas de pensamento importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Arnaldo Diniz Vieira, não poderia deixar de agradecer os ensinamentos sobre instrumental, técnicas e procedimentos veterinários.

Ao professor Thomaz Lucia Jr, professor do laboratório de reprodução animal, por estar sempre à disposição sanando dúvidas estatísticas.

Agradeço aos meus colegas de mestrado, Fabricio, Jéssica e Gabriel, aos doutorandos e estagiários pela parceria durante a realização dos experimentos e por tornarem este período de mestrado tão agradável.

Agradeço também ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, e sua coordenação pela oportunidade de formação e por todo os ensinamentos envolvidos neste processo.

Agradeço a FAPERGS, CNPq e CAPES pelo financiamento à pesquisa.

***“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos.”  
(Marrie Currie)***

## Resumo

PIRES, Otávio Saraiva. **Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos**. 2022. 35f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A adição de buserelina na inseminação artificial em tempo fixo (IATF) pode aumentar a sincronia das ovulações e a taxa de prenhez. Para testar essa hipótese, foram realizados três experimentos utilizando 445 ovelhas durante a estação reprodutiva (março e abril). Em todos os experimentos os animais permaneceram com dispositivo vaginal impregnado com progestágeno (DIV) por sete dias e receberam 250 µg de agente luteítico (cloprostenol) no momento da retirada do DIV (dia 7 = D7). No D9 (54h após a retirada do DIV), as ovelhas foram submetidas à IATF cervical superficial utilizando  $100 \times 10^6$  espermatozoides móveis contidos em um pool de sêmen coletado de quatro carneiros com fertilidade conhecida. No Exp. 1, no D7, as ovelhas (n = 30) foram alocadas em três grupos: eCG (200 UI na retirada do DIV; n=10); eCG+GnRH (200 UI de eCG na remoção do DIV e 4 µg de buserelina 36 h depois; n=10); ou GnRH (buserelina 36 h após a remoção do DIV; n=10). Amostras de sangue foram coletadas 2, 6 e 12 dias após a IATF (54 h após a remoção do DIV) para análise dos níveis séricos de P4. No Exp. 2, também no D7, as ovelhas foram alocadas em dois tratamentos: eCG (n = 45) 200 UI de eCG na retirada do DIV; ou GnRH (n = 40) 4 µg de buserelina na IATF. No Exp. 3, no D7, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois tratamentos: eCG (n = 183) 200 UI de eCG; e eCG-GnRH (n = 147) 200 UI de eCG no D7 e 4 µg de buserelina no momento da IATF. A gestação foi diagnosticada por ultrassonografia transretal 24 dias após a IATF. Os dados da gestação foram analisados pelo teste qui-quadrado. Os dados de níveis séricos de progesterona foram analisados usando modelos mistos para dados repetidos. Para ambos,  $p \leq 0,05$  foi considerado significativo. No Exp. 1, não houve efeito significativo de grupo ( $p=0,66$ ) ou grupo x dia ( $p=0,24$ ) sobre a concentração de P4, sendo observado efeito significativo apenas do dia da coleta ( $p=0,001$ ). No Exp. 2, a taxa de prenhez foi menor ( $p < 0,05$ ) no grupo GnRH que no grupo eCG. No Exp 3, a taxa de prenhez aumentou ( $P=0,05$ ) de 40,7% para 50,3% quando utilizado eCG-GnRH. Os resultados indicam melhora na taxa de prenhez com o tratamento com buserelina no momento da IATF quando a eCG é administrada na retirada do DIV. O uso isolado de buserelina, no momento da IATF, não substitui o tratamento com eCG. Os níveis séricos de progesterona não é alterada após tratamento com eCG, eCG+GnRH ou GnRH.

**Palavras-chave:** GnRH; indução de ovulação; manipulação ciclo estral; ovelha; reprodução.

## Abstract

PIRES, Otávio Saraiva. **Buserelin in fixed-time artificial insemination protocols in sheep**. 2023. 35f. Dissertation (Master degree in Sciences) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023

The addition of buserelin in fixed-time artificial insemination (FTAI) may increase synchrony of ovulations and pregnancy rate. To test this hypothesis, three experiments were conducted using 445 ewes during the reproductive season (March and April). In all experiments, animals remained with a progestogen-impregnated vaginal device (PIVD) for seven days and received 250 µg of luteolytic agent (cloprostenol) at the time of PIVD removal (day 7 = D7). On D9 (54 h after PIVD withdrawal), ewes underwent superficial cervical FTAI using  $100 \times 10^6$  motile sperm from a semen pool from four rams with known fertility. In Exp. 1, on D7, ewes (n = 30) were allocated in three groups: eCG (200 IU at PIVD removal; n=10); eCG+GnRH (200 IU eCG at PIVD removal and 4 µg buserelin 36 h later; n=10); or GnRH (buserelin 36 h after DIV removal; n=10). Blood samples were collected 2, 6, and 12 days after FTAI (54 h after PIVD removal) for analysis of serum P4 levels. In Exp. 2, also on D7, ewes were allocated to two treatments: eCG (n = 45) 200 IU of eCG at PIVD removal; or GnRH (n = 40) 4 µg of buserelin at FTAI. In Exp. 3, at D7, animals were randomly assigned to two treatments: eCG (n = 183) 200 IU of eCG; and eCG-GnRH (n = 147) 200 IU of eCG at D7 and 4 µg of buserelin at the time of FTAI. Pregnancy was diagnosed by transrectal ultrasonography 24 days after FTAI. Pregnancy data were analyzed by chi-square test. Serum progesterone levels data were analyzed using mixed models for repeated data. For both,  $p \leq 0.05$  was considered significant, In Exp. 1, there was no significant effect of group ( $p=0.66$ ) or group x day ( $p=0.24$ ) on P4 concentration, and a significant effect was observed only for collection day ( $p=0.001$ ). In Exp 2, the pregnancy rate was lower ( $p < 0.05$ ) in the GnRH group than in the eCG group. In Exp 3, the pregnancy rate increased ( $P=0.05$ ) from 40.7% to 50.3% when eCG-GnRH was used. The results indicate improved pregnancy rate with buserelin treatment at the time of FTAI when eCG is administered at PIVD withdrawal. The use of buserelin alone at the time of FTAI does not replace treatment with eCG. Serum progesterone levels is not different after treatment with eCG, eCG+GnRH or GnRH.

**Keywords:** GnRH; ovulation induction; estrous cycle manipulation; ewe; reproduction.



## Lista de Figuras

- Figura 1 Protocolos hormonais utilizados nos experimentos. eCG: gonadotrofina coriônica equina; GnRH: hormônio liberador de gonadotrofina; MPA; acetato de medroxiprogesterona. 21
- Figura 2 Concentração sérica de progesterona 2 (D2), 6 (D6) e 12 (D12) dias após a data provável da IATF. D0 inserção do DIV (60 mg de acetato de medroxiprogesterona); D7 remoção do DIV, 250 µg de cloprostenol IM e distribuição nos grupos: eCG, 200 UI de eCG IM (D7); eCG+GnRH, 200 UI de eCG IM (D7) e 4 µg de buserelina 36 horas após a remoção do DIV; e GnRH 4 µg de buserelina IM 36 horas após a remoção do DIV. 23
- Figura 3 Concentração sérica de progesterona 2 (D2), 6 (D6) e 12 (D12) dias após a IATF. \*No D0 DIV (60 mg de acetato de medroxiprogesterona); D7 remoção do DIV, 250 µg de cloprostenol IM e distribuição nos grupos: eCG, 200 UI de eCG IM (D7); eCG+GnRH, 200 UI de eCG IM (D7) e 4 µg de buserelina 36 horas após a remoção do DIV; e GnRH 4 µg de buserelina IM 36 horas após a remoção do DIV 23

## Lista de Abreviaturas e Siglas

µg	Microgramas
µL	Microlitros
CAP	Centro Agropecuário de Palma
CE	Cipionato de Estradiol
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CL	CL Corpo(s) Lúteo(s)
D	Dia
DIV	Dispositivo intravaginal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IM	Intra muscular
LH	Hormônio luteinizante
MAP	Medroxiprogesterona
P4	Progesterona
PGF	Prostaglandina
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
UI	Unidade Internacional

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>11</b>
<b>2 Artigo.....</b>	<b>17</b>
<b>3 Considerações Finais.....</b>	<b>29</b>
<b>Referências.....</b>	<b>30</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>33</b>

## 1 Introdução

### *Panorama geral da ovinocultura*

Os maiores rebanhos ovinos estão distribuídos pelos países pertencentes à Ásia, África e Oceania. A China, com 173 milhões de animais, se destaca como sendo o país com maior rebanho, seguido da Austrália, Índia, Irã, Sudão e Nova Zelândia. No cenário mundial o setor apresenta crescimento de 1,5% nos últimos anos, totalizando 1,2 bilhão de cabeças em 2020 (FAO 2022).

O Brasil, com cerca de 20,6 milhões de cabeças, se encontra em 18º lugar e seu rebanho se concentra principalmente nas regiões nordeste e sul do país. O Rio Grande do Sul, que na década de 1980 liderava a produção possuindo 11,9 milhões de cabeças, após a crise internacional da lã, com a desestruturação da cadeia, hoje possui 2,9 milhões de ovinos (EMBRAPA 2016). O maior rebanho do Brasil atualmente se encontra na Bahia, com 4,7 milhões de cabeças. A região nordeste do Brasil, com uma ovinocultura voltada a produção de carne e peles, atravessou a década de 1980 sem grandes oscilações e, a partir dos anos 2000, aumentou o crescimento de seu rebanho colocando a Bahia então como estado maior produtor de ovinos do país (IBGE 2020).

Atualmente, o principal produto das propriedades que continuaram na atividade passou a ser a carne, visto que a produção no Brasil apresenta um crescimento anual de 5% nos últimos quatro anos. Segundo dados da SELAIVE (2018), em 2010 foram abatidos 5 milhões de ovinos, com rendimento de mais de 80 mil toneladas de carne e 19,3 mil toneladas de pele. O consumo de carne de ovinos no Brasil vem crescendo, porém ainda não chega a 0,7 Kg per capita anual, valor muito reduzido quando comparado a países vizinhos (FAO 2022). Assim sendo, o baixo nível de consumo, juntamente com a importação de carne ovina, principalmente do Uruguai, na ordem de 4,7 toneladas no ano de 2018 (SUL 2022), mostra um espaço relevante para crescimento da atividade.

### *Ciclo estral das ovelhas*

As ovelhas apresentam sucessivos ciclos estrais que duram de 16 a 17 dias, divididos em fase luteal, que dura do segundo ao décimo terceiro dia, e uma fase folicular do décimo quarto ao primeiro dia do ciclo estral, considerando o estro como dia zero (BARTLEWSKI *et. al.*, 2011). Quando criadas em clima temperado, ovelhas são poliéstricas estacionais, ao contrário das fêmeas criadas próximas a região equatorial, que ovulam ao longo do ano, sendo consideradas poliéstricas contínuas (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Sob influência favorável do fotoperíodo, ocorrem normalmente três ou quatro ondas foliculares por ciclo estral. Esses ciclos são caracterizados por modificações neuroendócrinas associadas a vários órgãos e se iniciam pela influência da melatonina, produzida pela glândula pineal, que estimula a produção e secreção de GnRH no hipotálamo (BAIRD *et.al.*, 1991, CAVALCANTI *et.al.*, 2012)

O GnRH estimula a adenohipófise a sintetizar e secretar as gonadotrofinas, FSH e LH. Essas gonadotrofinas atuam sobre os ovários no desenvolvimento folicular (BLISS, 2010). Nas gônadas ocorre a síntese de  $17\beta$  estradiol e inibina pelos folículos e de progesterona (P4) pelo corpo lúteo (OLIVEIRA 2013), 2017). Estes hormônios desempenham a função de regulação de toda a cascata hormonal, pelos mecanismos de *feedback* positivo e negativo (BARTLEWSKI *et.al.*, 2011). A prostaglandina produzida pelas glândulas endometriais do útero é a responsável pela lise do corpo lúteo. A emergência de cada onda é controlada pelas concentrações de FSH, causando um recrutamento de folículos (BAIRD *et.al.*,1991)

No início do desenvolvimento folicular os níveis de estradiol inibem a secreção de gonadotrofinas no complexo hipotalâmico-hipofisário, evitando o estímulo excessivo sobre os ovários (OLIVEIRA 2011). De um a quatro folículos (raças de alta prolificidade) são selecionados para completarem seu crescimento e estabelecerem a dominância, podendo chegar a 5mm antes de iniciar o processo de regressão ou ovulação. Os níveis de estradiol e inibina secretados pelos folículos fornecem sinais de *feedback* negativo reduzindo a disponibilidade de FSH. Conforme se diferenciam, os folículos dominantes passam a expressar receptores de LH nas células da granulosa. Na presença de corpo lúteo as concentrações de LH não se elevam pela ação inibitória da P4 sobre a secreção e pulsatilidade do LH (FONSECA 2005). Como consequência da permanência de níveis baixos de LH a dominância folicular é interrompida, portanto, o folículo não ovula, entrando em processo de regressão e

atresia. Caso não existam fatores inibidores de LH, o folículo ovulatório completa seu desenvolvimento e maturação, neste caso, em baixas concentrações séricas de P4, os níveis de estradiol atingem concentração máxima, e induzem o comportamento estral das fêmeas. O estradiol atua ainda como *feedback* positivo no eixo gonadotrópico, causando aumento na secreção de GnRH e indução do pico de LH, sendo que a ovulação ocorre em torno de 20-26 horas após o pico de LH (CAMPBELL *et al.*, 1996, BAIRD *et.al.*, 1991, CAVALCANTI *et.al.*, 2012).

Logo após a ovulação, pela ação do LH, o corpo lúteo é formado, causando uma cascata de mudanças morfológicas e funcionais nas células de teca e granulosa do folículo que ovulou. O corpo lúteo por sua vez secreta P4, elevando as concentrações séricas deste hormônio acima de 1ng/mL durante aproximadamente 13 a 16 dias. As concentração de P4 apresentam um perfil de curva, com seu ápice por volta do 6 ao 10 dia (OLIVEIRA *et. al.*, 2013).

No final da fase lútea cerca de 12 a 14 dias após o estro, na ausência de embrião no útero, a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) é secretada pelas glândulas endometriais do útero não gravídico induzindo a regressão do corpo lúteo (luteólise) (FONSECA 2005). Este evento resulta no decréscimo das concentrações de P4 e transformação do corpo lúteo em corpo albicans (afuncional, em regressão morfológica). A diminuição de P4 ocorre de forma gradual e faz com que ocorra novamente secreção de hormônios gonadotróficos, especialmente LH, iniciando uma nova fase folicular (BARTLEWSKI *et. al.*, 2011).

#### *Inseminação artificial (IA) e Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)*

Se torna claro que a otimização de resultados produtivos, dentro da cadeia de ovinocultura demanda por tecnologias que acelerem seus processos e melhorem índices zootécnicos. Algumas ferramentas já desenvolvidas visam controlar, seja por métodos farmacológicos ou de manejo, a endocrinologia que comanda a dinâmica ovariana. Os objetivos deste controle podem ser diversos como: sincronização ou indução do estro e ovulação, IATF, superovulação e transferência de embriões. Essas biotécnicas reprodutivas aumentam o potencial reprodutivo e produtivo das propriedades.

A IA, é uma ferramenta frequentemente utilizada para melhoramento genético e eficaz no controle reprodutivo e apresenta algumas vantagens como: aumentar o

número de descendentes de machos geneticamente superiores, favorecendo o ganho genético, bem como promovendo o controle de doenças reprodutivas (FONSECA, 2005). A adoção de IA é facilitada pelas técnicas de sincronização e indução de ovulação, possibilitando o uso da IATF. Com esta técnica é possível dispensar a observação de estro, concentrando manejos e produzindo indivíduos melhoradores. Porém sua limitação pode estar relacionada a alguns fatores como: variação nos resultados de prenhez, escassa mão de obra especializada, falta de investimentos e resistência a adoção de novas tecnologias por parte dos produtores (SELAIVE 2018).

Protocolos de tratamento hormonal desencadeiam modificações no eixo endócrino de controle do ciclo estral de forma a encurtar ou prolongar a fase lútea do ciclo, ou manipular a estacionalidade reprodutiva da espécie (ABECIA *et al.*, 2011). Os primeiros protocolos desenvolvidos e publicados na década de 1980 foram a base de múltiplas aplicações de P4 (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Desde então este tratamento sofreu modificações e passou a ser o mais utilizado para sincronização de estro através de DIV. Neste tratamento a P4 exógena bloqueia temporariamente o crescimento final dos folículos. Tal efeito ocorre pela ação inibitória da secreção pulsátil de GnRH (BAIRD *et al.*, 1991). Após a retirada da fonte de P4 retorna a pulsatilidade de FSH e LH, estimulando o crescimento folicular final resultando em manifestação do estro e ovulação (RAWLINGS e COOK, 1993).

Quando o tratamento com progestágenos é combinado a administração de uma gonadotrofina como eCG que possui atividade de LH e FSH, resulta em maior sincronia das ovulações (GONZALEZ, 2008). Eventos endócrinos são reassumidos os quais estimulam o crescimento folicular manifestação do estro e ovulação, após um período de suplementação de P4 exógena.

Luther *et al.* (2007) avaliaram o efeito da associação de norgestomet (14 dias) ao eCG (na retirada do implante) e/ou GnRH (36h após a remoção do implante) na indução do estro e na taxa de prenhez em ovelhas após a IA por laparoscopia com sêmen congelado. A taxa de prenhez não diferiu entre os tratamentos (GnRH 51,5% vs. eCG 53,1% vs. GnRH+eCG 55,9%). Desse modo, nessas condições, os resultados indicam que a aplicação de GnRH isoladamente, pode substituir a eCG, mas que a associação de indutores não foi superior ao eCG. Santos-Jimenez *et al.* (2020) compararam a eficiência do protocolo longo de DIV (14 dias) associado a eCG (na remoção do DIV) ou GnRH (56 h após remoção do DIV) durante a estação reprodutiva. Os autores observaram que não houve diferença na taxa de manifestação

de estro e todos os animais que apresentaram estro, tiveram ovulações subsequentes. Somado a isso, a concentração de P4 e número de CL não diferiram entre os grupos. Já Cavalcanti et al. (2012) analisaram os efeitos da eCG+GnRH na ovulação e prenhez de ovelhas submetidas a protocolos de seis dias e IA por laparoscopia com sêmen fresco, sendo o GnRH administrado 24 horas após a retirada do DIV. Os autores verificaram que praticamente todos os animais manifestaram estro e não houve diferença na taxa de ovulação e prenhez. Conforme os dados demonstram, não há, segundo nosso conhecimento, estudo que avaliou o uso conjunto ou isolado de eCG e GnRH em protocolos de IATF em ovinos, utilizando IA superficial com sêmen fresco.

### *GnRH e seus análogos*

O GnRH é um decapeptídeo que desempenha função essencial no controle reprodutivo em todos os seres vertebrados (MCARDLE *et al.*, 2013). O mesmo é sintetizado no corpo celular dos neurônios hipotalâmicos, e liberado de forma pulsátil, diretamente, no sistema portal hipofisário das células gonadotróficas na hipófise anterior (ORTMANN *et al.*, 2002; CONN *et al.*, 1994). Este decapeptídeo se liga a receptores hipofisários e provoca uma sequência de eventos que incluem a microagregação desses receptores, internalização e ativação das vias de transdução de sinais de segundo mensageiro, como resultado há síntese e liberação de LH e FSH (BLISS *et al.*, 2010). Há formas sintéticas de GnRH que são semelhantes à molécula endógena, como a gonadorelina, e formas que possuem pequenas modificações na sua estrutura molecular, como a busarelina, lecirelina e deslorelina (ZAPLETAL *et al.*, 2008). Esses análogos agonistas são moléculas semelhantes ao endógeno, porém com pontuais modificações nos sítios de degradação enzimática. O aumento da resistência às peptidases e a maior afinidade da molécula ao seu receptor, prolongaram a meia-vida na circulação destes agonistas (HERBERT *et al.*, 2005). Esses análogos são denominados de superanálogos e alguns chegam a ser até 20 vezes mais potentes que o endógeno (ZAPLETAL *et al.*, 2008). O GnRH quando utilizado induz a onda pré ovulatória de LH cerca de 2 horas após a aplicação por via intramuscular, resultando em uma indução das ovulações de forma sincrônica (PICARD-HAGEN *et al.*, 2015).

Na espécie ovina, há grande número trabalhos descritos que utilizam análogos sintéticos de GnRH com o intuito de melhorar a resposta reprodutiva. Entretanto,



essas formas sintéticas são utilizadas de maneira completamente empírica, pois não há fórmulas licenciadas que indiquem o uso em ovinos (BALARO *et al.*, 2016). Considerando a grande disponibilidade e o custo relativamente acessível dos análogos de GnRH, os mesmos vêm sendo utilizados frequentemente e demandam novos estudos que adequem protocolos já utilizados.

O objetivo do estudo foi avaliar a possibilidade de utilizar a buserelina, um super análogo do GnRH, como indutor de ovulação em protocolos de IATF em ovinos combinado ou não ao uso de eCG.

## **2. Artigo**

### **Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos**

Submetido para a revista Theriogenology, em parceria com a Universidade do Estado de Santa Catarina.

## **Buserelina em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em ovinos.**

**Otávio Saraiva Pires<sup>1</sup>, Sergio Farias Vargas Júnior<sup>2</sup>, Fernando Caetano de Oliveira<sup>3</sup>, Gabriel Maggi<sup>1</sup>, Thais Trindade Colombo<sup>1</sup>, Rogério Ferreira<sup>4</sup>, Arnaldo Diniz Vieira<sup>1</sup>, Bernardo Garziera Gasperin<sup>1</sup>, Rafael Gianella Mondadori<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas - Grupo Fisiopatologia e Biotécnicas da Reprodução Animal (FiBRA-UFPel);

<sup>2</sup> Centro Universitário da Região da Campanha -URCAMP;

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária;

<sup>4</sup> Universidade Estadual de Santa Catarina – Chapecó

### **Resumo**

A adição de buserelina na inseminação artificial em tempo fixo (IATF) pode aumentar a sincronia das ovulações e a taxa de prenhez. Para testar essa hipótese, foram realizados três experimentos utilizando 445 ovelhas durante a estação reprodutiva (março e abril). Em todos os experimentos os animais permaneceram com dispositivo vaginal impregnado com progestágeno (DIV) por sete dias e receberam 250 µg de agente luteítico (cloprostenol) no momento da retirada do DIV (dia 7 = D7). No D9 (54h após a retirada do DIV), as ovelhas foram submetidas à IATF cervical superficial utilizando  $100 \times 10^6$  espermatozoides móveis contidos em um pool de sêmen coletado de quatro carneiros com fertilidade conhecida. No Exp. 1, no D7, as ovelhas (n = 30) foram alocadas em três grupos: eCG (200 UI na retirada do DIV; n=10); eCG+GnRH (200 UI de eCG na remoção do DIV e 4 µg de buserelina 36 h depois; n=10); ou GnRH (buserelina 36 h após a remoção do DIV; n=10). Amostras de sangue foram coletadas 2, 6 e 12 dias após a IATF (54 h após a remoção do DIV) para análise dos níveis séricos de P4. No Exp. 2, também no D7, as ovelhas foram alocadas em dois tratamentos: eCG (n = 45) 200 UI de eCG na retirada do DIV; ou GnRH (n = 40) 4 µg de buserelina na IATF. No Exp. 3, no D7, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois tratamentos: eCG (n = 183) 200 UI de eCG; e eCG-GnRH (n = 147) 200 UI de eCG no D7 e 4 µg de buserelina no momento da IATF. A gestação foi diagnosticada por ultrassonografia transretal 24 dias após a IATF. Os dados da gestação foram analisados pelo teste qui-quadrado. Os dados de níveis séricos de progesterona foram analisados usando modelos mistos para dados repetidos. Para ambos,  $p \leq 0,05$  foi considerado significativo. No Exp. 1, não houve efeito significativo de grupo ( $p=0,66$ ) ou grupo x dia ( $p=0,24$ ) sobre a concentração de P4, sendo observado efeito significativo apenas do dia da coleta ( $p=0,001$ ). No Exp. 2, a taxa de prenhez foi menor ( $p < 0,05$ ) no grupo GnRH que no grupo eCG. No Exp 3, a taxa de prenhez aumentou ( $P=0,05$ ) de 40,7% para 50,3% quando utilizado eCG-GnRH. Os resultados indicam melhora na taxa de prenhez com o tratamento com buserelina no momento da IATF quando a eCG é administrada na retirada do DIV. O uso isolado de buserelina, no momento da IATF, não substitui o tratamento com eCG. Os níveis séricos de progesterona não é alterada após tratamento com eCG, eCG+GnRH ou GnRH.

**Palavras-chave:** GnRH; indução de ovulação; manipulação ciclo estral; ovelha; reprodução.

## 1. Introdução

A inseminação artificial (IA), é uma ferramenta frequentemente utilizada para aumentar o número de descendentes de um macho geneticamente superior, favorecendo o ganho genético, bem como para promover o controle de doenças reprodutivas (FONSECA, 2005). A adoção de IA é facilitada pelas técnicas de sincronização e indução de ovulação, possibilitando o uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), que dispensa a necessidade de verificação de estro.

Protocolos de tratamento hormonal desencadeiam modificações no eixo endócrino de controle do ciclo estral de forma a encurtar ou prolongar a fase lútea do ciclo, ou manipular a estacionalidade reprodutiva da espécie (ABECIA *et al.*, 2011). Os tratamentos mais utilizados, são a base de progestágenos exógenos, visando bloquear temporariamente o crescimento final dos folículos. Tal efeito ocorre pela ação inibitória da secreção pulsátil de GnRH (BAIRD *et al.*, 1991). Após a retirada da fonte de progesterona (P4) retorna a pulsatilidade de FSH e LH estimulando o crescimento folicular final resultando em manifestação do estro e ovulação (RAWLINGS e COOK, 1993). Quando o tratamento com progestágenos é combinado a administração de uma gonadotrofina como eCG que possui atividade de LH e FSH, resulta em maior sincronia das ovulações (GONZALEZ, 2008).

A característica de gerar resposta imunogênica após múltiplas aplicações (DRION *et al.*, 2001) e de possíveis restrições à produção do eCG já observadas em alguns países, geram demanda para novos estudos que identifiquem um tratamento alternativo para estimulação de crescimento folicular final e ovulação em ovinos. Além disso, os protocolos de IATF atualmente utilizados em ovinos, permitem a obtenção de taxa de concepção de 40 a 50% quando realizada IA cervical superficial com sêmen fresco (Silveira *et al.*, 2021). Na espécie ovina, os análogos sintéticos de GnRH vem sendo utilizados para melhorar a resposta reprodutiva (BALARO *et al.*, 2016). O objetivo deste estudo foi utilizar buserelina (superanálogo de GnRH), com o intuito de melhorar a sincronia proporcionada pelo eCG ou mesmo substituí-lo em programas de IATF.

## 2. Materiais e métodos

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (Processo #73402). O estudo foi realizado durante a estação reprodutiva (março e abril), em fazendas no Rio Grande do Sul. Foram utilizadas 445 ovelhas Corriedale, mantidas em campo nativo, com escore de condição corporal mínimo de 2,5 (escala de 0-5), idade entre 2 e 8 anos com peso médio de 45kg. Foram realizados três experimentos em 4 propriedades diferentes situadas na região sudeste do Rio Grande do Sul.

### Experimento 1

Visando avaliar o efeito do eCG e do GnRH sobre os níveis de progesterona sérico, 30 ovelhas foram submetidas aos protocolos descritos na Figura 1. Todos os animais receberam o mesmo protocolo inicial, no D7, foram divididos em três tratamentos: Grupo eCG (Fig. 1A, n=10, 200 UI de eCG IM); Grupo eCG+GnRH (Fig. 1B, n=10, 200 UI eCG IM e 4 µg de buserelina IM 36 h após - D8,5); e Grupo GnRH (Fig. 1C, n=10, 4 µg de buserelina IM no D8,5). Amostras de sangue foram coletadas 2, 6 e 12 dias após a data da provável IATF (54 h após a remoção do DIV), para análise da concentração de P4 sérica por quimiluminescência (Elecsys Progesterona III Cobas Assay, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha; REF 07092539) em um laboratório comercial.

### Experimento 2

Neste experimento foi avaliada a ação isolada do eCG e do GnRH sobre a taxa de prenhez de ovelhas submetidas a IATF. Os 85 animais receberam os protocolos descritos na Figura 1A e 1C. No D7 os animais do grupo eCG (n=45) receberam 200 UI de eCG IM e os do grupo GnRH (n=40), receberam 4 µg de buserelina IM (D9) no momento da IATF.

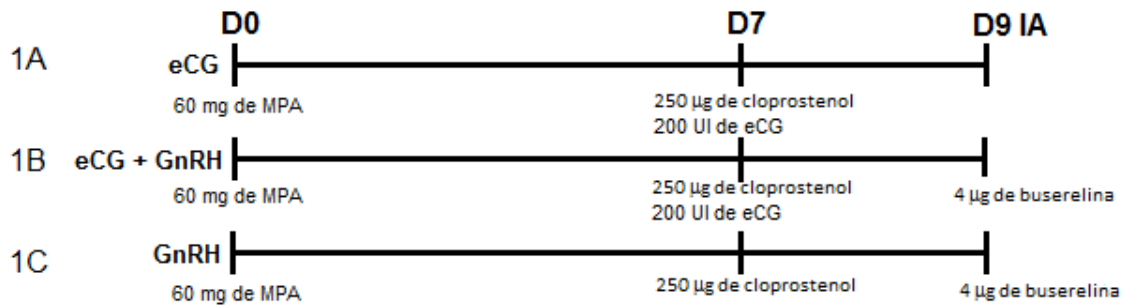


Figura 1 – Protocolos hormonais utilizados nos experimentos. eCG: gonadotrofina coriônica equina; GnRH: hormônio liberador de gonadotrofina; MPA; acetato de medroxiprogesterona..

### Experimento 3

O experimento 3 foi realizado em 4 réplicas (n=330), em propriedades nos municípios de Pinheiro Machado, Pelotas e Dom Pedrito, todos no Rio Grande do Sul. Com base nos resultados anteriores, este experimento foi delineado para avaliar a taxa de prenhez dos protocolos descritos na Figura 1A (n = 183) e 1B (n = 147).

### IATF e diagnóstico de gestação

As ovelhas dos experimentos 2 e 3 foram submetidas à IA cervical superficial, 54 horas após a remoção do DIV. A IA foi realizada utilizando sêmen fresco coletado de quatro carneiros com fertilidade conhecida, na dose  $100 \times 10^6$  espermatozoides móveis em um volume de 100 µL. O diagnóstico de gestação foi realizado 24 dias após a IA por ultrassonografia transretal e determinada a taxa de concepção (nº de ovelhas prenhes/total de ovelhas sincronizadas).

### Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SAS. Para comparação das taxas de prenhez utilizou-se o teste Qui-quadrado, enquanto as concentrações de progesterona foram analisadas utilizando modelos mistos para dados repetidos. Em ambos testes,  $P \leq 0,05$  foram considerados significativos.

### 3. Resultados

Os resultados do Exp. 1 estão descritos na Figura 2. Não houve efeito significativo de grupo ( $p=0,66$ ) ou grupo x dia ( $p=0,24$ ) na concentração de P4, sendo observado efeito significativo apenas entre os dias de coleta ( $P=0,001$ ). Importa ressaltar que todos os animais apresentaram níveis acima de 1ng/ml no D6.

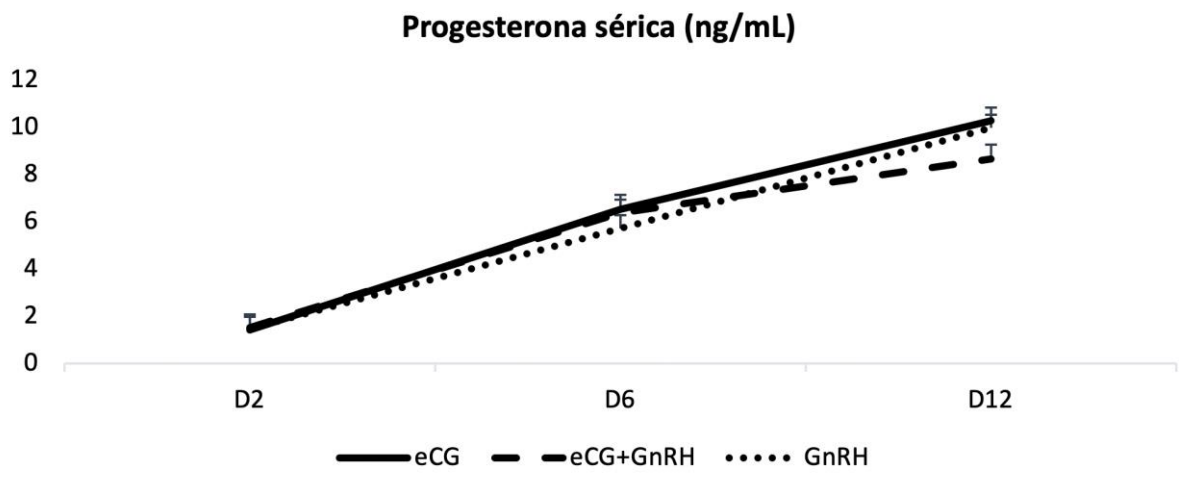


Figura 2. Concentração sérica de progesterona 2 (D2), 6 (D6) e 12 (D12) dias após a data provável da IATF. D0 inserção do DIV (60 mg de acetato de medroxiprogesterona); D7 remoção do DIV, 250 µg de cloprostenol IM e distribuição nos grupos: eCG, 200 UI de eCG IM (D7); eCG+GnRH, 200 UI de eCG IM (D7) e 4 µg de buserelina 36 horas após a remoção do DIV; e GnRH 4 µg de buserelina IM 36 horas após a remoção do DIV.

No Exp. 2, a taxa de prenhez para o grupo eCG (46,7%) foi superior ( $P<0,05$ ) a taxa (22,5%) obtida no grupo GnRH. Assim sendo, a aplicação isolada de buserelina no momento da IA, sem estímulo prévio do desenvolvimento folicular com eCG, reduziu a taxa de prenhez quando comparada com o uso isolado de eCG.

Conforme observado na Figura 3, foi possível notar que a aplicação do análogo do GnRH no momento da IATF, em animais previamente tratados com eCG (Exp. 3), aumentou significativamente a taxa de prenhez de 40,7% para 50,3%.

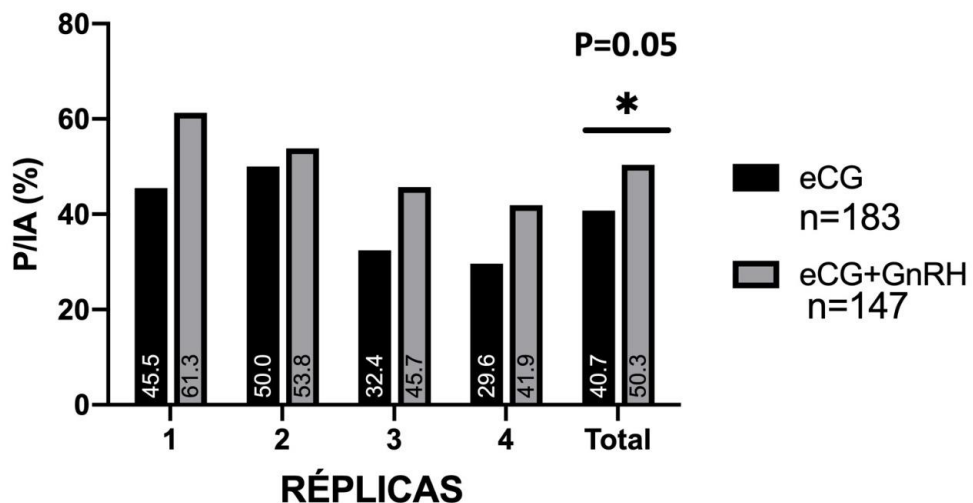


Figura 3. Taxa de prenhez de cada réplica do Experimento 3. \*No D0 DIV (60 mg de acetato de medroxiprogesterona); D7 remoção do DIV, 250 µg de cloprostenol IM e distribuição nos grupos: eCG, 200 UI de eCG IM (D7); e eCG+GnRH, 200 UI de eCG IM (D7) e 4 µg de buserelina IM na IATF (cinquenta e quatro horas após a remoção do DIV).

#### 4. Discussão

O presente estudo avaliou o uso do buserelina na IATF em ovelhas na estação reprodutiva, associado ou não a eCG e seu efeito na síntese de P4. As hipóteses foram: a associação eCG/GnRH aumenta a taxa de prenhez; e, o GnRH pode substituir a eCG em protocolos de sincronização do estro de ovinos. A aplicação de GnRH no momento da IATF associado a eCG, melhorou a taxa de prenhez, sem afetar a concentração de P4. Por outro lado, a taxa de prenhez foi inferior nos animais em que o GnRH foi aplicado isoladamente.

A associação de GnRH à protocolos de sincronização do estro baseados em P4/eCG promovem maior sincronização do estro e indução da ovulação (Reyna *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2015). A administração do GnRH no momento da IATF, e não 24-36h após a remoção do DIV, possibilita a diminuição do número de manejos com os animais (Wildeus, 2000), sem prejudicar o desempenho reprodutivo. Assim como no presente estudo, Aski *et al.* (2016) e Biehl *et al.* (2017) observaram que a associação eCG/GnRH aumentou a taxa de prenhez de ovelhas submetidas à IA. Da mesma forma, em bovinos, o GnRH tem se mostrado eficiente em melhorar a taxa de prenhez em animais que não manifestam estro (Cedeño *et al.*, 2021; Tschopp *et al.*, 2022).



A eCG é amplamente utilizada devido a ação semelhante ao FSH e LH e meia-vida longa (MURPHY e MARTINUK, 1991). Contudo, existe a tendência da interrupção da produção por questões éticas (Gonzalez-Bulnes, *et al.*, 2020). O GnRH tem se mostrado a principal alternativa até o momento, em fêmeas que não são deficientes de gonadotrofina, ou seja, na estação reprodutiva. Nesses casos acredita-se que o uso de GnRH isoladamente poderia possibilitar taxas de manifestação de estro, sincronia do pico de LH, momento da ovulação, concentração de P4 (Martinez-Ros e Gonzalez-Bulnes, 2019; Santos-Jimenez *et al.*, 2020) e taxa de prenhez (Martinez-Ros e Gonzalez-Bulnes, 2019) adequados na estação reprodutiva.

No presente estudo, não foram avaliados outros parâmetros relacionados à ovulação além da concentração de P4 que, indiretamente, reflete a taxa de ovulação, que não diferiu entre os grupos. Entretanto, como a taxa de prenhez do grupo GnRH foi inferior, nas condições testadas, uma possível substituição é desaconselhada. Zhang *et al.* (2022) aplicaram GnRH 48h após a remoção do DIV em receptoras de embriões e observaram maior proporção de corpos lúteos no momento da transferência, mas queda na taxa de prenhez. Logo, o paradoxo entre função luteal e prenhez, torna necessário entender melhor de que forma o GnRH interfere na ovulação, produção de P4 e desenvolvimento embrionário para adequar estratégias reprodutivas em ovinos.

## 5. Conclusão

Os resultados indicam que a utilização da buserelina no momento da IATF, quando o desenvolvimento folicular é estimulado por eCG administrado na remoção do DIV, foi capaz de incrementar a taxa de prenhez de ovelhas durante a estação reprodutiva. Porém, o uso de buserelina isoladamente, no momento da IATF, não substitui o tratamento com eCG, pois resultou em uma menor taxa de prenhez. Também foi possível determinar que os níveis de P4 não foram alterados após o tratamento com eCG, eCG+GnRH ou GnRH.

**Financiamento:** Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – Edital PRONEX 12/2014-FAPERGS/CNPq, 16/2551-

0000494-3; e Edital FAPERGS 06/2021 – RITEs-RS, 22/2551-0000391-5) pelo suporte financeiro. Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem ao Centro Agropecuário da Palma - UFPel e as propriedades parceira pela cedência dos animais.

## Referências

ABECIA J.A., FORCADA F., GONZÁLE-BULNES A. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, v.27(1), p.67-79,2011

ASSUNÇÃO, C. F. D. Indução e sincronização de estro em ovinos: revisão de literatura. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; MANN, G. E.; MCNEILLY, A. S. Inibin and estradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, v.43, p.125-138, 1991.

BALARO, M. F. A. et al. Potential role for GnRH in the synchronization of follicular emergence before the superovulatory Day 0 protocol. *Domestic animal endocrinology*, v. 54, p. 10-14, 2016.

BARI F., KHALID M., WOLF B., HARESIGN W., MURRAY A., MERREL B., The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, v56, p.147 – 155, 2001.

BIEHL, M. V. et al. Effect of reproductive methods and GnRH administration on long-term protocol in Santa Ines ewes. *Trop Animal Health Prod* (2017) 49:1303–1308

BLISS, S. P. et al. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. *Frontiers in neuroendocrinology*, v. 31, n. 3, p. 322-340, 2010.

CAMPBELL B.K., MCNEILLY A.S Follicular dominance and oocyte maturation. *Zygote*, v.4, p.501-509, 1991.

CAVALCANTI, A. D. S.; BRANDÃO, F. Z.; NOGUEIRA, L. A. G.; FONSECA, J. F. D. Effects of GnRH administration on ovulation and fertility in ewes subjected to estrous synchronization. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 1412-1418, 2012.

CEDEÑO A.V.; CUERVO. R.; TRÍBULO. A.; TRÍBULO. R.;ANDRADA. S.; MAPLETOFT. R.; MENCHACA. A.; GABRIEL. A. Effect of expression of estrus and

treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/ progesterone-based protocol. *Theriogenology* 161, ( 2021) 294-300.

CONN, PH. D, P. M.; CROWLEY JR, M.D, W. F. Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. *Annual review of medicine*, v. 45, n. 1, p. 391-405, 1994.

DRIANCOURT, M. A.; GIBSON, W. R.; CAHILL, L. P. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. *Reproduction Nutrition Développement*, v. 25, n. 1A, p. 1-15, 1985.

DRION P.V., FURTOSS V., BARIL G., MANFREDI E., BOUVIER F., POUGNARD J.L., BERNELAS D., CAUGNON P., MCNAMARA E.M., REMY B., SULON J., BECKERS J.F., BODIN L., LEBCEUF B. (2001) Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of the eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod Nutr Dev* 41:401-412.

EMBRAPA. Evolução Anual do efetivo de rebanho ovino 2016. Disponível em:<https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/producao-mundial> Acesso em 25 de set de 2022.

FAO. Estatísticas FAO - FAOSTAT. The Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/> . Acesso em: 13 set. 2022.

FONSECA J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em caprinos e ovinos. IN. Congresso Brasileiro de Reprodução animal. 16, 2005, Goiânia, 2005.

GONZÁLEZ A.A.T., RUZ Y.P., SANSÓN C.D., Control de estro e la ovulacion em ovinos y caprinos. In: GONZÁLEZ R.S., HERNÁNDEZ J.A.M. Reprodución de ovejas e y cabras. 1 ed. Universidad Nacional Autonoma de México – UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México. P.174-189, 2008.

HERBERT, C. A.; TRIGG, T. E. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science*, v. 88, n. 1, p. 141-153, 2005.

HOSSEINZADEH ASKI, A., MASOUDI, R., ZARE SHAHNEH, A., ASADZADEH, S., DIRANDEH, E., SADEGHIPANAH, H. The effect of equine chorionic gonadotrophin (eCG) injection combined with prostaglandin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) and gonadotrophin releasing hormone(GnRH) treatment on reproductive performance of Zandi ewes during non-breeding season. *Archives of Razi Institute*, Vol. 71, No. 4 (2016) 269-276

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA, 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em: 20 set. 2021.

LUTHER, J. S.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; KIRSCH, J. D.; WEIGL, R. M.; KRAFT, K. C.; NAVANUKRAW, C.; PANT. D.; REYNOLDS, L. D.; REDMER, D. A. The effect of

GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Research*, 72(2-3), 227-231, 2007.

MARTINEZ-ROS, P.; GONZALEZ-BULNES, A. Efficiency of CIDR-based protocols including GnRH instead of eCG for estrus synchronization in sheep. *Animals*, v. 9, n. 4, p. 146, 2019.

MENCHACA A., VILARINO M., PINCZAK A., KMAID S., SALDANA 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.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine reviews*, v. 12, n. 1, p. 27-44, 1991.

OLIVEIRA M.E.F., D'AMATO C.C., AYRES H., OLIVEIRA L.G., TEIXEIRA P.P.M., FONSECA J.F., VICENTE W.R.R. Padrão de emergência de ondas foliculares em protocolos longos( com ou sem a troca de CIDR) e efeito estacionalidade em ovelhas Santa Ines. *Acta Scientiae Veterinariae*, v38, p.361, 2011.

OLIVEIRA M.E.F., TEIXEIRA.P.P.M., VICENTE W.R.R. Biotécnicas reprodutivas em ovinos e caprinos. 1ed, p 71-89, 2013.

ORTMANN, O.; WEISS, J. M.; DIEDRICH, K. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. *Reproductive biomedicine online*, v. 5, p. 1-7, 2002.

PETERS A.R. Veterinary clinical application of GnRH- questions of efficacy. *Animal reproduction Science*. V.88, p.155-167, 2005.

PICARD-HAGEN, N. et al. Effect of gonadorelin, lecirelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. *Theriogenology*, v. 84, n. 2, p. 177-183, 2015.

RAWLINGS, N.; COOK, S. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Animal Reproduction Science*, v.30, n.4, p.289- 299, 1993.

REYNA, J.; THOMSON, P.C.; EVANS, G.; MAXWELL, WMC. Synchrony of Ovulation and Follicular Dynamics in Merino Ewes Treated with GnRH in the Breeding and Non-breeding Seasons. *Reprod Dom Anim* 42, 410–417 (2007)

SANTOS, B.R.C.; Seminário apresentado na disciplina Endocrinologia da Reprodução do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. Porto Alegre, 2002.

SANTOS-JIMENEZ. Z.; MARTINEZ-HERRERO.C.; ENCINAS. T.; MARTINEZ-ROS. P.; GONZALES-BULNES. A. Comparative efficiency of oestrus synchronization in sheep with progesterone/eCG and progesterone/GnRH during breeding and non-breeding season. *Reprod Dom Anim*. 2020.

SCARAMUZZI, R. J.; CALDWELL, B. V.; MOOR, R. M. Radioimmunoassay of LH and estrogen during the estrous cycle of the ewe. *Biology of reproduction*, v. 3, n. 1, p. 110-119, 1970.

SELAIVE VELLARROEL.A.B., OSÓRIO,J.C.S, *Produção de ovinos no brasil*. 1ed.-cap 28 p 399- 444. São Paulo, 2019.

SILVA B.D.M.; SILVA T.A.S.N.; MOREIRA N.H.; TEIXEIRA H.C.A.; PAIVA NETO M.A.; NEVES J.P.; RAMOSA.F. Ovulation induction in ewes using GnRH in long and short-term synchronization protocols. *Anim. Reprod.*, Belo Horizonte, v.12, n.2, p.312-315, Apr./Jun. 2015.

SILVA SOBRINHO, A.G. et al. *Produção de carne ovina*. 1ed Jaboticabal: Funep, 2008, 228p.

SUL. Secretariado Uruguayo de la Lana. Disponível em: <https://www.sul.org.uy>. Acesso em 23 de set 2022.

TSCHOPP. J. C.; BO. G. A. Success of artificial insemination based on expression of estrus and the addition of GnRH to an estradiol/progesterone-based protocol on pregnancy rates in lactating dairy cows. *Theriogenology* 238 106-954, 2022.

WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci*, v. 77, n. 1, p. 47-53, 2000.

ZAPLETAL, D.; PAVLIK, A. The effect of lecorelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. *Animal reproduction science*, v. 104, n. 2, p. 306-315, 2008.

ZHANG. J.; WU. X.; LI. X. GnRH administration after estrus induction protocol decreases the pregnancy rate of recipient ewes following transfer of frozen-thawed embryos. *Small Ruminant Research* 217, 106 328, 2008.

### **3 Considerações Finais**

A IATF é uma biotécnica que permite realizar a IA em um grande número de fêmeas no mesmo período, anulando a necessidade de observação de estro, reduzindo manejos, otimizando mão de obra e tempo. Os protocolos convencionais já existentes apresentam taxas consideráveis de sucesso quando utilizado a eCG como indutor de ovulação. Por apresentar um elevado custo e por questões relacionadas ao bem estar animal, alguns estudos vem sendo desenvolvidos visando a utilização de GnRH ou seus análogos como indutores de ovulação com parados ao eCG.

Este estudo avaliou a utilização de buserelina, superanálogo do GnRH, como indutor de ovulação em tratamentos isolados ao eCG ou combinado, em protocolos de IATF, utilizando sêmen fresco diluído com deposição cervical superficial.

Os resultados demonstraram que o uso de GnRH, combinado a eCG, resultou em um acréscimo significativo na taxa de prenhez. Além disso, a buserelina, de forma isolada, não foi capaz de produzir as mesmas taxas de prenhez quando comparada com eCG, porém, a concentração sérica de progesterona não diferiu quando a buserelina foi usada isolada ou em combinação com a eCG.

## Referências

ABECIA J.A., FORCADA F., GONZÁLE-BULNES A. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practive**, v. 27, p. 67-79, 2011.

ASSUNÇÃO, C. F. D. Indução e sincronização de estro em ovinos: revisão de literatura. 2017. **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária)** - Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; MANN, G. E.; MCNEILLY, A. S. Inibin and estradiol in the control of FSH secretion in the sheep. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement**, v. 43, p.125-138, 1991.

BALARO, M. F. A. et al. Potential role for GnRH in the synchronization of follicular emergence before the superovulatory Day 0 protocol. **Domestic animal endocrinology**, v. 54, p. 10-14, 2016.

BARI F., KHALID M., WOLF B., HARESIGN W., MURRAY A., MERREL B., The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. **Theriogenology**, v. 56, p.147 – 155, 2001.

BARTLEWSKI P.M, BABY T.E, Giffin J.L - Reproductive cycles in sheep. **Animal reproduction science**, v.124 p. 259 – 268, 2011.

BLISS, S. P. et al. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 31, n. 3, p. 322-340, 2010.

CAMPBELL B.K., MCNEILLY A.S Follicular dominance and oocyte maturation. **Zygote**, v. 4, p. 501-509, 1991.

CAVALCANTI, A. D. S.; BRANDÃO, F. Z.; NOGUEIRA, L. A. G.; FONSECA, J. F. D. Effects of GnRH administration on ovulation and fertility in ewes subjected to estrous synchronization. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1412-1418, 2012.

CONN, PH. D, P. M.; CROWLEY JR, M.D, W. F. Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. **Annual review of medicine**, v. 45, n. 1, p. 391-405, 1994.

DRIANCOURT, M. A.; GIBSON, W. R.; CAHILL, L. P. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. **Reproduction Nutrition Developement**, v. 25, n. 1A, p. 1-15, 1985.

DRION P.V., FURTOSS V., BARIL G., MANFREDI E., BOUVIER F., POUGNARD J.L., BERNELAS D., CAUGNON P., MCNAMARA E.M., REMY B., SULON J., BECKERS J.F., BODIN L., LEBCEUF B. Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of the eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. **Reprod Nutr Dev** v. 41, p. 401-412, 2001.

EMBRAPA. Evolução Anual do efetivo de rebanho ovino 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-caprinos-e-ovinos/producao-mundial> Acesso em 25 de set de 2022.

FAO. Estatísticas FAO - FAOSTAT. The Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/> . Acesso em: 13 set. 2022.

FONSECA J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em caprinos e ovinos. IN. **Congresso Brasileiro de Reprodução animal**. 16, 2005,.

GONZÁLEZ A.A.T., RUZ Y.P., SANSÓN C.D., Control de estro e la ovulación em ovinos y caprinos. In: GONZÁLEZ R.S., HERNÁNDEZ J.A.M. **Reproducción de ovejas e y cabras**. 1 ed. Universidad Nacional Autónoma de México – UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México. v. 4, p. 174-189, 2008.

GRANDE PEREIRA, R. **Resposta a diferentes formas de GnRH na espécie ovina** – Chapecó, p. 44, 2017.

HERBERT, C. A.; TRIGG, T. E. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. **Animal Reproduction Science**, v. 88, n. 1, p. 141-153, 2005.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA, 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em: 20 set. 2021.

LUTHER, J. S.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; KIRSCH, J. D.; WEIGL, R. M.; KRAFT, K. C.; NAVANUKRAW, C.; PANT. D.; REYNOLDS, L. D.; REDMER, D. A. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 72, p. 227-231, 2007.

MENCHACA A., VILARINO M., PINCZAK A., KMAID S., SALDANA 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.

OLIVEIRA M.E.F., D'AMATO C.C., AYRES H., OLIVEIRA L.G., TEIXEIRA P.P.M., FONSECA J.F., VICENTE W.R.R. Padrão de emergência de ondas foliculares em protocolos long os( com ou sem a troca de CIDR) e efeito estacionalidade em ovelhas Santa Ines. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, p. 361, 2011.

OLIVEIRA M.E.F., TEIXEIRA.P.P.M., VICENTE W.R.R. **Biotécnicas reprodutivas em ovinos e caprinos**. v. 1, p. 71-89, 2013.



ORTMANN, O.; WEISS, J. M.; DIEDRICH, K. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. **Reproductive biomedicine online**, v. 5, p. 1-7, 2002.

PETERS A.R. Veterinary clinical application of GnRH- questions of efficacy. **Animal reproduction Science**. v.88, p.155-167, 2005.

PICARD-HAGEN, N. et al. Effect of gonadorelin, lecorelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. **Theriogenology**, v. 84, n. 2, p. 177-183, 2015.

RAWLINGS, N.; COOK, S. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 4, p.289-299, 1993.

SANTOS - JIMENEZ, Z., MARTINEZ - HERRERO, C., ENCINAS, T., MARTINEZ-ROS, P., & GONZALEZ-BULNES, A. Comparative efficiency of oestrus synchronization in sheep with progesterone/eCG and progesterone/GnRH during breeding and non- breeding season. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n .7 p. 882-884, 2020.

SCARAMUZZI, R. J.; CALDWELL, B. V.; MOOR, R. M. Radioimmunoassay of LH and estrogen during the estrous cycle of the ewe. **Biology of reproduction**, v. 3, n. 1, p. 110-119, 1970.

SELAIVE VELLARROEL.A.B., OSÓRIO,J.C.S, **Produção de ovinos no brasil**. v. 1. n. 3 p. 28, 399- 444. São Paulo, 2019.

SILVA SOBRINHO, A.G. et al. **Produção de carne ovina**. 1ed Jaboticabal: Funep, v 3 p. 228, 2008.

SUL. Secretariado Uruguayo de la Lana. Disponível em: <https://www.sul.org.uy>. Acesso em 23 de set 2022.

ZAPLETAL, D.; PAVLIK, A. The effect of lecorelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. **Animal reproduction science**, v. 104, n. 2, p. 306-315, 2008.

**Anexo**



**PARECER N°**  
**PROCESSO N°**

**160/2020/CEEA/REITORIA**  
**23110.031587/2020-17**

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Alternativas para o controle do ciclo estral de bovinos e ovinos.**”, registrada com o n° 23110.031587/2020-17, sob a responsabilidade de **Rafael Gianella Mondadori** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **08 de dezembro de 2020**.

Finalidade	( x ) Pesquisa      ( ) Ensino
Vigência da autorização	01/01/2021 a 30/12/2025
Espécie/linhagem/raça	<i>Ovis aries</i> – raças comerciais e cruzas <i>Bos taurus</i> – raças comerciais e cruzas
N° de animais	486 ovinos 688 bovinos

Idade	ovinos - 12 a 60 meses bovinos - 12 a 96 meses
Sexo	ovinos - 26 machos e 460 fêmeas bovinos - 688 fêmeas
Origem	Centro Agropecuário da Palma - UFPel
	Propriedades particulares

Código para cadastro nº **CEEA 31587-2020**

---

**M.V. Dra. Anelize de  
Oliveira Campello Felix**

*Presidente da CEEA*



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, Médico Veterinário, em 16/12/2020, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1158071** e o código CRC **F7CD04A5**.

---