

## BUSERELINA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO DE OVELHAS

THIFANI C. SESSIM<sup>1</sup>; JÉSSICA LAZZARI<sup>2</sup>; OTÁVIO S. PIRES<sup>3</sup>; ÍSIS S. DA CUNHA<sup>4</sup>; BERNARDO G. GASPERIN<sup>5</sup>; RAFAEL G. MONDADORI<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – thifani.sessim99@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – jelazzari@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – otaviosaraivavet@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – isissoaresdacunha04@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – bggasperin@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas - rgmondadori@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, ovinocultores tem buscado aprimoramento das técnicas de produção e reprodução para intensificar a criação e suprir a demanda de carne e lã dos consumidores finais. Dentre as biotécnicas reprodutivas, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), permite otimizar processos do sistema produtivo que irão gerar retornos diretos e indiretos para produtores e técnicos.

A estimulação hormonal com gonadotrofinas, principalmente a gonadotrofina coriônica equina (eCG), ao final do tratamento com progestágenos é eficaz na promoção do crescimento folicular, esteroidogênese, sincronização do estro e ovulação (Simonetti et al., 1999). Contudo, a melhora na sincronia do estro e ovulação, através da associação de indutores de ovulação, como eCG e hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) por exemplo, é um gargalo a ser estudado.

Naturalmente, o GnRH é secretado pelo hipotálamo e estimula a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) pela adenohipófise. O FSH atua sobre os ovários através da estimulação do desenvolvimento folicular ovariano (BAIRD et al., 1991). O LH é responsável pela ovulação e transformação das células foliculares em células lúteas, formando o corpo lúteo (CL) (SANTOS, 2002). Comercialmente, dentre os análogos de GnRH disponíveis no mercado, a buserelina apresenta aproximadamente quarenta vezes a potência do GnRH endógeno (STEVENSON, 1983), sendo assim, um superanálogo do GnRH.

Em ovinos, o GnRH já tem sido utilizado em protocolos de curta duração e mostrou ter eficiência semelhante aos protocolos baseados em eCG durante a estação reprodutiva (Jimenez et al., 2020). Em protocolos de longa duração é eficaz em induzir a ovulação sem diminuir o volume do corpo lúteo e a concentração de progesterona (P4) (Silva et al., 2018). Já em bovinos, foi capaz de melhorar a taxa de manifestação de estro e sincronia do momento da ovulação, quando aplicado no momento da IATF (FACHIN, 2018). Dessa forma, os resultados indicam que a utilização de GnRH no momento da IATF pode ser uma boa ferramenta para melhorar a sincronia da ovulação.

A eCG possui função semelhante ao FSH e LH e meia-vida longa (MURPHY e MARTINUK, 1991), motivos pelos quais é amplamente utilizada. Contudo, como é obtida a partir do soro de éguas prenhes, existe a tendência da interrupção da produção do hormônio futuramente tendo em vista as atuais preocupações éticas sobre bem-estar animal (Gonzalez-Bulnes, et al., 2020). Dessa forma, baseado nessas premissas, o estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o uso da buserelina na IATF em ovelhas durante a estação reprodutiva, associado ou não a eCG.

## 2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado durante a estação reprodutiva (março e abril), em fazendas no Rio Grande do Sul. Foram utilizadas 445 ovelhas, mantidas em campo nativo, com escore de condição corporal mínimo de 2,5 (escala de 0-5). Tendo em vista a disponibilidade de animais, foram realizados três experimentos em fazendas diferentes, mas com protocolo hormonal inicial em comum. Todos os animais, no dia do início do protocolo (D0), receberam um DIV (60 mg de Acetato de medroxiprogesterona) que após sete dias (D7) foi retirado e aplicado 250 µg de cloprostenol im (intramuscular).

No experimento 1, no D7, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo eCG (n=183), onde foram tratados com 200 UI de eCG im (D7) e grupo eCG+GnRH (n=147), em que receberam 200 UI de eCG im (D7) e 4 µg de buserelina im no momento da IATF (D9 - 54h após a remoção do DIV). No experimento 2, no D7, os animais foram divididos em dois grupos: grupo eCG (n=45), onde receberam 200 UI de eCG im (D7) e grupo GnRH (n=40), tratadas com 4 µg de buserelina im (D9) no momento da IA. Em ambos os experimentos, no D9, as ovelhas foram submetidas à IATF cervical superficial de um pool de sêmen coletado de quatro carneiros com fertilidade conhecida. O diagnóstico de gestação foi realizado 24 dias após a IATF por ultrassonografia transretal e determinada a taxa de prenhez (nº de ovelhas prenhes/total de ovelhas aptas à reprodução).

No experimento 3, no D7, as ovelhas foram alocadas em três grupos: grupo eCG (n=10), que recebeu 200 UI de eCG im (D7); grupo eCG+GnRH (n=10), no qual aplicou-se 200 UI eCG im (D7) e 4 µg de buserelina im 36 h depois (D8,5) e grupo GnRH (n=10), em que se administrou apenas 4 µg de buserelina im (D8,5). Amostras de sangue foram coletadas 2, 6 e 12 dias após a IATF para análise da concentração de P4 circulante por quimioluminescência, em laboratório privado. A taxa de prenhez foi comparada pelo teste Qui-quadrado e para a concentração de P4 foram utilizados modelos mistos para dados repetidos, sendo  $P < 0,05$  considerado significativo.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, a taxa de prenhez foi superior ( $p < 0,05$ ) para o grupo eCG+GnRH (50,3%) em comparação com o grupo eCG (40,7%). Já no experimento 2, a taxa de prenhez foi menor ( $p < 0,05$ ) quando o GnRH (22,5%) foi utilizado isoladamente, se comparado com o grupo eCG (46,7%). No experimento 3, não houve efeito significativo de grupo (eCG vs. GnRH vs. eCG+GnRH;  $p = 0,66$ ) ou grupo x dia ( $P = 0,24$ ) na concentração de P4, sendo observado efeito significativo do dia ( $P = 0,001$ ). Dessa forma, pode-se observar que a aplicação de GnRH no momento da IATF associado ao eCG, melhorou a taxa de prenhez, sem afetar o desenvolvimento do corpo lúteo. Por outro lado, nas condições testadas, as taxas de prenhez não foram iguais quando o GnRH foi aplicado isoladamente.

A utilização do GnRH 56h após a retirada do DIV (momento em que se espera que ocorra a ovulação) ao invés de 24-36h após, é vantajosa, pois diminui o manejo com os animais (WILDEUS, 2000). Martinez-Ros e Gonzalez-Bulnes (2019) verificaram ao submeter ovelhas ao protocolo: DIV (5 dias) e eCG, na remoção do DIV ou GnRH, 56 h após a remoção do DIV, que não houve diferença na taxa de manifestação de estro, no intervalo entre a retirada do DIV e pico de LH, no

momento da ovulação e na concentração de P4. Dessa forma, a sincronia da ovulação foi semelhante entre os grupos, o que sugere uma possível substituição da eCG pelo GnRH.

Por sua vez, 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. No presente estudo, no experimento 3, a concentração de progesterona também não diferiu entre os grupos, o que sustentaria a hipótese de substituição da eCG. Contudo, visto que, no experimento 2, a taxa de prenhez caiu pela metade no grupo que recebeu GnRH, nas condições testadas, uma possível substituição é descartada.

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 inseminação artificial 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 isoladamente, assim sendo, diferente do que ocorre com a IATF cervical superficial, aparentemente, quanto a IA é realizada por laparoscopia, o GnRH pode ser um substituto da eCG.

Por fim, Cavalcanti et al. (2012) analisaram os efeitos da eCG+GnRH na ovulação e prenhez de ovelhas submetidas a sincronização do estro de curto prazo, no qual, a administração de GnRH ocorreu 24 horas após a retirada do DIV. Verificaram que praticamente todos os animais manifestaram estro e não houve diferença na taxa de ovulação e prenhez. No presente estudo, foi mensurada a concentração de progesterona, que indiretamente, reflete a taxa de ovulação. Assim, mesmo a aplicação de GnRH entre 24 - 36h após a remoção do DIV ser a mais adequada, quando associada ao eCG, tanto no presente estudo quanto no de Cavalcanti et al. (2012), não mostrou favorecer a ovulação. Contudo, esta hipótese deve ser melhor estudada através da taxa de prenhez.

#### 4. CONCLUSÕES

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. Também foi possível determinar que a síntese de progesterona não foi alterada após o tratamento com eCG, eCG+GnRH ou GnRH.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; MANN, G. E.; MCNEILLY, A. S. **Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep.** J Reprod Fertil Suppl, n. 43, p. 125-138, 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.

FACHIN, H. **Uso de GnRH no momento da inseminação artificial como ferramenta para otimizar os resultados de protocolos de IATF em gado de corte.** 2018.

GONZALEZ-BULNES, A., MENCHACA, A., MARTIN, G. B., & MARTINEZ-ROS, P. **Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: Where we are and where we should go.** *Reproduction, Fertility and Development*, 32(5), 441-452, 2020.

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.

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

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., & 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*, 55(7), 882-884, 2020.

SILVA, B. D. M.; SILVA, T. A. S. N.; MOREIRA, N. H.; TEIXEIRA, H. C. A.; NETO, M. P.; NEVES, J. P.; RAMOS, A. F. **Ovulation induction in ewes using GnRH in long and short-term synchronization protocols.** *Animal Reproduction*, 12(2), 312-315, 2018.

SIMONETTI, L.; RAMOS, G.; GARDÓN, J. C. **Estrus presentation and distribution in ewes treated with intravaginal sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate (MAP) in combination with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG).** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 36, n. 5, p. 00-00, 1999.

STEVENSON, J.S., BRITT, J.H. **Detection of estrus by three methods.** *Journal Dairy Science*. 60:1994-1998, 1977.

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