

SUPEROVULAÇÃO EM BOVINOS USANDO PMSG OU UM EXTRATO BRUTO DE HIPÓFISE DE CAVALO (HAP)¹

CARLOS MIGUEL JAUME² e ANA LUCIA CAMPOS³

RESUMO - Quarenta animais mestiços Holandês x Zebu foram utilizados para comparar o efeito superovulatório do PMSG com um extrato de hipófise de cavalo (HAP). A metade dos animais recebeu 2000 UI de PMSG, e a outra metade uma injeção de 70 mg de HAP durante três dias consecutivos. Quarenta e oito horas após o início do tratamento os animais receberam 25 mg de prostaglandina F2 α . Foram inseminados com sêmen congelado do mesmo touro 12 e 24 horas após detecção do cio, e 7 dias depois, submetidos a colheita não cirúrgica de embriões. Na colheita foram registrados o comprimento, largura e altura dos ovários para estimar o seu volume. Os embriões foram classificados de acordo com a sua morfologia. O volume médio dos ovários foi de 382,6 vs 204 cm³; o número médio de estruturas coletadas foi de 4,3 vs 4,2, e o número médio de embriões transferíveis foi de 1,2 vs 2,4 para os animais tratados com PMSG e HAP, respectivamente. Não houve diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros registrados.

Termos para indexação: estimulação da ovulação, colheita de embriões.

SUPEROVULATION IN CATTLE WITH PMSG OR A HORSE ANTERIOR PITUITARY EXTRACT (HAP)

ABSTRACT - Forty Friesian x Zebu crossbred animals were used to compare the superovulatory effect of PMSG with a horse anterior pituitary extract (HAP). Half the animals were injected with 2000 UI of PMSG, and the other half received a daily injection during three consecutive days of 70 mg of HAP; 48 hours after the first injection all animals received 25 mg of prostaglandin F2 α . All animals were inseminated with frozen-thawed semen from the same bull 12 and 24 hours after oestrus detection and subjected to non surgical embryo recovery 7 days after oestrus. At the time of embryo recovery the length, width and height of the ovaries were registered to estimate the ovarian volume. Embryos recovered were classified morphologically. Mean ovarian volume was 382,6 vs 204 cm³, mean number of ova collected was 4,3 vs 4,2 and mean number of transferable embryos was 1,2 vs 2,4 for animals treated with PMSG and HAP respectively. There were no statistically significant differences ($P > 0,05$) between the treatments for any of the parameters registered.

Index terms: stimulation of ovulation, embryo collection.

INTRODUÇÃO

A indução da superovulação nos bovinos desempenha um papel muito importante no que se refere ao sucesso de um programa de

transferência embrionária. Os resultados obtidos no laboratório, na superovulação de bovinos, utilizando a gonadotrofina de soro de égua prenhe (PMSG), disponível no comércio, têm sido uma decepção, especialmente em termos de embriões transferíveis. Em geral, quando se obtinha uma boa resposta, em termos ovulatórios, a maior parte, senão todos os embriões, não eram transferíveis.

Um extracto bruto de hipófise de cavalo (HAP) tem sido utilizado na superovulação de ovinos (Moore & Shelton 1962, 1964), caprinos (Moore 1974) e bovinos (Moore 1975).

¹ Aceito para publicação em 21 de dezembro de 1990
Trabalho financiado pelo PADCT-FINEP.

² Eng. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (CNPGL), Rodovia MG 133, Km 42, CEP 36155 Coronel Pacheco, MG.

³ Bióloga, EMBRAPA/CNPGL.

O presente trabalho foi realizado para comparar os efeitos de PMSG e do HAP na estimulação da superovulação em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O HAP foi preparado utilizando-se mais de 500 hipófises de cavalo, coletadas e congeladas no matadouro, para serem processadas posteriormente no laboratório, de acordo com o método descrito por Moore & Shelton (1964).

Quarenta animais mestiços holandês x zebu (Guzerá e Gir), 13 novilhas e 27 vacas em lactação, entre 1/2 e 7/8 sangue holandês, foram utilizadas no experimento. Os animais foram mantidos no pasto, com livre acesso a sal mineral, e suplementação duas vezes do dia, quando as vacas eram trazidas para a ordenha, as novilhas com 2 kg por cabeça por dia, e as vacas com 4 kg por cabeça por dia de uma ração com 24% de proteína bruta.

Os animais foram examinados duas vezes por dia (7 h e 17 h), para detecção de cio, com a ajuda de uma vaca tratada com testosterona e equipada com um buçal marcador.

Dentro de cada categoria, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo A) constituído de sete novilhas e treze vacas, e grupo B) com seis novilhas e quatorze vacas. Os animais no grupo A receberam uma injeção intramuscular de 2000 UI de gonadotrofina de soro de égua prenhe (PMSG, Maturon, Laboratório Organon do Brasil) e os do grupo B receberam uma injeção subcutânea de 70 mg de HAP por dia, durante três dias consecutivos. As injeções de gonadotrofina foram iniciadas entre os dias oito e doze do ciclo estral (dia do cio = dia 0). Quarenta e oito horas após a primeira injeção, todos os animais receberam uma injeção (im) de 25 mg de Prostaglandina F_{2α} (Lutalyse Laboratório Upjohn do Brasil). Todos os animais foram inseminados artificialmente, 12 e 24 horas após a detecção do cio, com sêmen congelado do mesmo touro.

Sete dias após o cio, os animais foram submetidos a anestesia epidural baixa (5 ml de 2% xilocaína) e colheita não cirúrgica dos embriões. O meio utilizado para a colheita foi a solução de tampão fosfato de Dulbecco (PBS) (Whittingham 1971). Os embriões foram localizados com a ajuda de um microscópio de dissecação, lavados e classificados, de acordo com a sua morfologia, em quatro categorias: 1) excelente, 2) bom, 3) pobre e 4) não viável.

O tamanho dos ovários (comprimento, largura e altura em cm) e o número de ovulações foram esti-

mados através de palpação retal e registrados no momento da colheita. As dimensões dos ovários foram utilizadas para calcular os volumes, assumindo que eram corpos retangulares. Para examinar a distribuição da resposta ovulatória aos tratamentos, os animais foram distribuídos entre seis intervalos, de acordo com o número de ovulações: 2 - 4; 5 - 7; 8 - 10; 11 - 13; 14 - 16 e > 16. Os dados de frequência de animais que se encontravam nos diferentes intervalos de ovulação foram analisados pelo teste de X², os de volume ovariano e número de ovulações, submetidos à análise de correlação e os outros, submetidos à análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em trabalhos preliminares foi determinada a dosagem necessária de HAP, para provocar a superovulação em ovelhas. Como a dose de PMSG para provocar a superovulação em ovelhas é de 1000 UI, e para bovinos, 2000 UI, duplicando a dose de HAP para ovelhas chegou-se à dosagem a ser utilizada nos bovinos.

Dos 20 animais tratados com 2000 UI de PMSG, uma vaca não manifestou comportamento de cio após o tratamento. Uma vaca e uma novilha do grupo tratado com HAP não tiveram seus ovários estimulados, apresentando somente um corpo lúteo por animal. Os dados destes animais não foram incluídos nas análises estatísticas.

O intervalo de tempo entre a aplicação de Prostaglandina e a detecção do cio foi de 1,9 dias para os animais em ambos os tratamentos (Tabela 1). Houve uma grande variação nos dados sobre volume ovariano; os ovários do grupo de animais tratados com PMSG apresentavam um volume ovariano maior do que os animais tratados com HAP (382,6 vs 204 cm³, respectivamente), mas a diferença não foi estatisticamente significativa (P > 0,05).

O número médio de ovulações foi de 7,3 e 7,6 para os animais, nos grupos A e B, respectivamente. O número total de estruturas coletadas foi de 81 e 75, sendo o número médio de 4,3 e 4,2 estruturas por animal para os

TABELA 1. Resposta ao tratamento com PMSG ou HAP para provocar a superovulação no bovino (média \pm DP).

Tratamento	Nº de animais	Intervalo PG - estro (dias)	Volume ovariano (cm ³)	Nº de ovulações
A) PMSG	19	1,9 \pm 0,4	382,6 \pm 637,0	7,3 \pm 5,8
B) HAP	18	1,9 \pm 0,3	204,0 \pm 230,0	7,6 \pm 4,4

Tratamento	Nº estruturas coletadas	Taxa de recuperação (%)	Nº embriões transferíveis	% embriões transferíveis
A) PMSG	4,3 \pm 6,0	47,9 \pm 46,7	1,2 \pm 1,6	33,1 \pm 41,7
B) HAP	4,2 \pm 4,0	54,5 \pm 44,3	2,4 \pm 3,0	43,8 \pm 42,9

grupos tratados com PMSG e HAP, respectivamente. O número médio de embriões transferíveis por animal foi de 1,2 e 2,4, para os animais do grupo A e B, respectivamente. A percentagem de estruturas coletadas foi de 47,9 e 54,5 e de embriões transferíveis de 33,1 e 43,8, para os animais tratados com PMSG e HAP, respectivamente.

A percentagem de animais correspondente aos diferentes intervalos de ovulação está apresentada na Tabela 2. No grupo de animais tratados com PMSG, aproximadamente a metade dos animais (47%) tiveram 2 - 4 ovulações, enquanto que, no grupo de animais tratados com HAP, 84% dos animais ficaram uniformemente distribuídos nos três primeiros intervalos de ovulação (28% dos animais caíram em cada um dos intervalos de 2 a 4; 5 a 7 e 8 a 10 ovulações). Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos na distribuição dos animais nos diferentes intervalos de ovulação.

A análise de correlação revelou uma correlação estatisticamente significativa entre o volume ovariano e o número de ovulações. O coeficiente de correlação entre volume de ovário e número de ovulações foi de 0,94 e 0,69,

para os animais do grupo A e B, respectivamente.

O método utilizado para determinar o tamanho dos ovários, no presente experimento, resulta numa sobreestimação do verdadeiro tamanho, já que os ovários têm forma oval e foram considerados como corpos retangulares. Entretanto, o erro envolvido é o mesmo para os dois tratamentos e resulta num valor que pode ser estatisticamente analisado. No presente trabalho, o volume estimado dos ovários resultou numa boa indicação de resposta, em termos de número de ovulações.

A taxa de ovulação observada no presente experimento foi similar às publicadas por outros autores que utilizaram uma dose semelhante de PMSG (Tervit & Smith 1975, Elsden et al. 1978, Voss et al. 1983, Oliveira-Angel et al. 1984). Entretanto, o número médio de embriões transferíveis foi menor em relação aos obtidos por Elsden et al. (1978), Greve et al. (1979) e Monniaux et al. (1983). Esta diferença pode ser devida à natureza subjetiva de classificação de embriões. Entretanto, Shelton (1984) obteve um número menor de embriões transferíveis de animais *Bos indicus* do que de animais *Bos taurus* (1,14 vs 3,07, respectivamente). Os animais usados neste trabalho fo-

TABELA 2. Percentagem de animais de cada tratamento distribuídos nos seis intervalos de acordo com o número de ovulações.

Tratamento	Intervalo de ovulações					
	2 a 4	5 a 7	8 a 10	11 a 13	14 a 16	> 16
A) PMSG	47	16	16	11	5	5
B) HAP	28	28	28	5	5	5

ram mestiços entre *Bos taurus* e *Bos indicus*, sendo possível que este tipo de animal produza um número menor de embriões transferíveis após a superovulação. Outra possibilidade é que o hormônio utilizado neste trabalho resulte num número maior de embriões degenerados do que os utilizados nos outros trabalhos publicados na literatura. O tamanho maior dos ovários observados no grupo tratado com PMSG, apesar de não ser estatisticamente significativo, poderia ser devido a uma maior proporção de atividade do tipo LH presente no PMSG utilizado.

A falta de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, nos parâmetros medidos, indica que o HAP é tão eficiente quanto o PMSG, para provocar a superovulação em bovinos nas dosagens utilizadas. Entretanto, considerando que 84% dos animais tratados com HAP estavam uniformemente distribuídos nos três primeiros intervalos de ovulação, que o volume dos ovários era menor, e que produziram o dobro do número de embriões transferíveis, parece indicar que, com alguns ajustes na dosagem, o HAP poderia ser utilizado com vantagem sobre o PMSG na superovulação de bovinos.

CONCLUSÃO

O extrato bruto de hipófise de cavalo (HAP) é tão eficiente quanto a gonadotrofina de soro de égua prenhe (PMSG) na estimulação da superovulação em bovinos nas dosagens utilizadas neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos diretores do Frigorífico Avante, de Araguari, MG, por permitir a colheita das hipófises de cavalo naquele estabelecimento; ao Dr. J. Japiassu Holanda, pela sua valiosa colaboração na dissecação das hipófises; ao Sr. E.L. Alvim, pela excelente assistência técnica na execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ELSDEN, R.P.; NELSON, L.D.; SEIDEL JÚNIOR, G.E. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology*, v.9, p.17-26, 1978.
- GREVE, T.; LEHN-JENSEN, H.; RASBECH, N.O. Morphological evaluation of bovine embryos recovered non-surgically from superovulated dairy cows on days 6 1/2 to 7 1/2: A field study. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, v.19, p.1599-1611, 1979.
- MONNIAUX, D.; CHUPIN, D.; SAUMANDE, J. Superovulatory response of cattle. *Theriogenology*, v.19, p.55-81, 1983.
- MOORE, N.W. The control of oestrus and ovulation and the induction of superovulation in cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.26, p.295-304, 1975.
- MOORE, N.W. Multiple ovulation and ovum transfer in the goat. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, v.10, p.246-249, 1974.
- MOORE, N.W.; SHELTON, J.N. Oestrus and ovarian response of the ewe to a horse anterior pituitary extract. *Nature*, Lond., v.194, p.1283-1284, 1962.
- MOORE, N.W.; SHELTON, J.N. Response of the ewe to a horse anterior pituitary extract. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.7, p.79-87, 1964.
- OLIVEIRA-ANGEL, M.; VOSS, H.J.; HOLTZ, W. Recovery rate and quality of embryos collected from suckled cows and beef heifers after superovulation with PMSG. *Theriogenology*, v.22, p.553-562, 1984.

- SHELTON, J.N. Superovulation, collection, evaluation and transfer of embryos. In: SIMPOSIUM ON CHARACTERIZATION OF THE BOVINE IMMUNE SYSTEM AND THE GENES REGULATING EXPRESSION OF IMMUNITY WITH PARTICULAR REFERENCE TO THEIR ROLE IN DISEASE RESISTANCE, 1984, Honolulu. Hawaii. **Proceedings...** Honolulu: [s.n.], 1984. p.11-17.
- TERVIT, H.R.; SMITH, J.F. Egg transfer in cattle: effect of hormonal treatment on synchronization of oestrus and ovarian response. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v.35, p.78-82, 1975.
- VOSS, H.J.; OLIVEIRA-ANGEL, M.; HOLTZ, W. Superovulation in beef cattle with PMMSG and prostaglandins or progestins. **Theriogenology**, v.20, p.615-625, 1983.
- WHITTINGHAM, D.G. Survival of mouse embryos after freezing and thawing. **Nature**, Lond. v.233, p.125-126, 1971.