

Qualidade do corpo lúteo e do embrião de ovelhas Santa Inês superovuladas com FSH associado à rbST

[Quality of corpus luteum and embryo of Santa Inês ewes superovulated with FSH associated with rbST]

I.M. Rocha do Nascimento¹, A. Sousa Júnior¹, M.A. Castelo Branco¹, Y.N.T. Carvalho¹, L.H.C.M. Mota¹, S.B. Ferreira, I.O.T Souza¹, F.J. Moraes Júnior¹, T.M. Leal², J.A.T. Souza¹

¹Universidade Federal do Piauí – Centro de Ciências Agrárias – Teresina, PI

²Embrapa Meio-Norte, PI

RESUMO

Avaliou-se o efeito da somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre a qualidade do corpo lúteo e do embrião e sobre a concentração de progesterona (P_4), em ovelhas da raça Santa Inês doadoras de embriões. Foram utilizadas 13 doadoras, distribuídas aleatoriamente em dois grupos, G1 (n=7) e G2 (n=6). Em ambos os grupos, as doadoras foram sincronizadas com implante vaginal por 14 dias, receberam 100µg de PGF_{2α} (Ciosin®) no sétimo dia e foram superovuladas, a partir do 12º dia, com 250UI de FSH (Folltopin-V®) em seis doses decrescentes. No dia da retirada do implante, as doadoras do G2 receberam 125mg de rbST (Boostin®) e foram cobertas por macho Santa Inês a cada 12 horas até o final do estro. No sexto dia após a primeira cobertura, foram avaliadas, por laparoscopia, a resposta superovulatória e a quantidade e a qualidade dos corpos lúteos. Após as avaliações, as colheitas embrionárias foram realizadas por laparotomia. A administração da rbST no protocolo de superovulação promoveu aumento significativo ($P < 0,05$) no número de corpos lúteos do tipo I (9,00 x 5,28) e na qualidade embrionária (4,33 x 2,00).

Palavras-chave: ovelha, embrião, GH

ABSTRACT

We evaluate the effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on the quality of the corpus luteum and embryo and on the concentration of progesterone (P_4) in donors embryo sheep Santa Inês. 13 donors were used, randomly assigned to two groups, G1 (n=7) and G2 (n=6). In both groups, the donors were synchronized with vaginal implant for 14 days and received 100µg of PGF_{2α} (Ciosin®) on the seventh day and were superovulated, from the 12th day, with 250IU of FSH (Folltopin-V®) in six decreasing doses. On the day of implant removal the donor G2 received 125mg of rbST (Boostin®), and were covered by Santa Inês male every 12 hours until the end of estrus. In the sixth day after the first mating were evaluated by laparoscopy, superovulatory response and the amount and quality of the corpus luteum. After the evaluations, the embryonic harvests were performed by laparotomy. The administration of rbST in superovulation protocol promoted a significant increase ($P < 0.05$) in the number of corpus luteum of type I (9.00 x 5.28) and embryo quality (4.33 x 2.00).

Keywords: sheep, embryo, GH

INTRODUÇÃO

A transferência de embriões (TE) tem contribuído significativamente para a melhoria do manejo reprodutivo, da rentabilidade e da produtividade dos rebanhos nacionais, pois

permite aceleração na multiplicação dos animais geneticamente superiores (Ishwar e Memon, 1996).

O maior entrave aos programas de TE é a variabilidade da resposta ao tratamento superovulatório entre as doadoras (Cognié, 1999;

Recebido em 8 de fevereiro de 2013

Aceito em 2 de setembro de 2013

E-mail: isoldamarcia@bol.com.br

Nagano *et al.*, 2004). Ao longo do tempo, têm-se utilizado diversos protocolos hormonais em diferentes dosagens, especialmente com os hormônios FSH, hCG e eCG, para superar esse entrave.

Estudos têm usado a somatotropina bovina recombinante (rbST) em protocolos de superovulação, pois sua utilização aumenta o número de folículos antrais recrutados, melhorando a resposta superovulatória em vacas (Kozicki *et al.*, 2005). Além disso, ela atua na maturação oocitária, diminuindo o número de estruturas não fertilizadas e melhorando o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (Izadyar *et al.*, 1996; Markkula e Makarevich, 2001). A rbST, também, aumenta a concentração de IGF-I, que atua na aceleração do desenvolvimento do corpo lúteo, consequentemente no aumento de secreção de progesterona em bovinos (Lucy, 2000).

A rbST em protocolos de superovulação em ovelhas é pouco utilizada, daí a carência de informações da eficiência desse protocolo nessa espécie. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre a qualidade dos corpos lúteos e dos embriões e sobre a concentração de progesterona (P₄) em ovelhas da raça Santa Inês

MATERIAL E METÓDOS

O experimento foi conduzido no Setor de Ovinocultura da Embrapa Meio-Norte, no município de Campo Maior, região norte do estado do Piauí. Segundo dados da estação meteorológica da Embrapa Meio-Norte, a pluviosidade média da região foi de 420mm, a temperatura média de 28°C, temperaturas mínima e máxima de 23°C e 34°C, respectivamente, e a umidade relativa média de 70%.

Foram utilizadas 13 doadoras de embriões da raça Santa Inês, com idade de 3-4 anos, peso entre 40-45kg e com escore corporal entre 3-4 na escala de 1 a 5. Todas as doadoras foram avaliadas quanto à saúde geral e integridade dos órgãos reprodutivos, por exames ultrassonográficos, 30 e 15 dias antes e no dia do início do tratamento hormonal. Durante o experimento, as doadoras foram mantidas sob regime extensivo, com acesso a piquetes de

capim mimoso (*Axonopus purpusii*) e capim milhã (*Digitaria sanguinalis*), água e sal mineral à vontade. Divididas aleatoriamente em dois grupos, G1-controle (n=7) e G2-rbST (n=6), as doadoras foram sincronizadas com implante intravaginal contendo 0,33g de progesterona natural (CIDR[®], InterAG – Nova Zelândia) por 14 dias, receberam no sétimo dia, por via IM, 100µg de PGF_{2α} (Ciosin[®], Intervet/Schering-Plough Animal Health - Brasil) e foram superovuladas com 250UI de FSH (Folltropin-V[®], Bioniche - Canadá) em seis doses decrescentes, a cada 12 horas, a partir do 12º dia, por via IM. No dia da retirada do implante, as doadoras do G2 receberam 125mg de rbST (Boostin[®], Intervet/Schering-Plough Animal Health - Brasil), via SC, na fossa isqueorretal. Após a retirada do implante, foram monitoradas quanto ao início do estro, por um período de 30 minutos, em intervalos de seis horas, com auxílio de machos com proteção peniana. Caracterizada a manifestação do estro, as doadoras foram cobertas por macho da raça Santa Inês, com fertilidade comprovada. As coberturas ocorreram a cada 12 horas, até o final do estro.

As colheitas embrionárias foram realizadas, por laparotomia, no sexto dia após a primeira cobrição. Antes, porém, as doadoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido por 12 horas e, por laparoscopia, foi avaliada a resposta superovulatória. Para tanto, as doadoras foram submetidas a uma associação de 250mg de cloridrato de cetamina (Dopalen[®], Vetbrands – Brasil) e 20mg de cloridrato de xilazina (Anasedan[®], Vetbrands – Brasil) como anestesia. Com auxílio do tubo óptico, os corpos lúteos foram quantificados e classificados. A classificação dos corpos lúteos procedeu-se em função do seu tamanho e da intensidade de sua coloração, da seguinte forma: CL1 – grande e com coloração vermelho-intensa, e CL2 – pequeno e com coloração vermelho-clara. Após essa avaliação, as fêmeas foram submetidas a uma incisão mediana ventral para exposição e lavagem dos cornos uterinos. Exteriorizados os cornos uterinos, estes foram perfurados próximo à junção uterotubárica com um cateter intravenoso 20G, por onde foram injetados 200mL de solução salina fosfatada tamponada (DMPBS[®], Nutricell - Brasil), aquecida a 37°C, em frações de 50mL. O lavado foi recolhido por meio de uma sonda Foley nº 8, fixada próximo à bifurcação uterina, diretamente em filtro coletor

de embrião. Ao término da lavagem, o fluido uterino retido no filtro foi transferido para placa de Petri (100x20mm) e observado em estereomicroscópio (40X) para contagem e classificação das estruturas recuperadas. Os embriões viáveis foram transferidos para outra placa de Petri (35x10mm) contendo meio de manutenção (TQC Holding, Nutricell – Brasil), sendo, então, avaliados e classificados de acordo com a IETS (Manual..., 1998). Embriões viáveis – mórula, blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido de qualidade 1, 2 e/ou 3 (excelente, bom e regular) – foram envasados, aos pares, em Tomcat, com meio de manutenção (TQC Holding, Nutricell – Brasil), onde permaneceram até o momento da inovulação.

A colheita de sangue para dosagem de progesterona (P_4) foi realizada por venopunção da jugular com tubos a vácuo, sem anticoagulante, nos dias da colocação do implante (D0), da retirada do implante (D14) e da colheita de embriões (D20). Após a colheita, o sangue foi centrifugado a 1500G para obtenção do soro, que foi acondicionado em tubos de 2mL, e estes acondicionados a -20°C . As dosagens hormonais foram realizadas por radioimunoensaio (RIA) em fase sólida (Coat-A-Coat Progesterone, DPC – EUA), com sensibilidade de 0,1ng/mL e coeficiente de variação intraensaio de 4,2%.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente ao acaso. Os dados de corpos lúteos, estruturas recuperadas, estágio de desenvolvimento, qualidade embrionária e concentração de P_4 , por não apresentarem normalidade ou homogeneidade, foram submetidos à análise não paramétrica de Wilcoxon. As taxas de recuperação e de embriões transferíveis foram arranjadas em tabelas de contingência e, posteriormente, submetidas à análise pelo teste de χ^2 . Todas as análises foram realizadas de acordo com o *software* SAS (Statistical..., 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de recuperação no grupo de doadoras foi, respectivamente, de 76% e 73% no G1 e no G2. Folch *et al.* (2001), ao trabalharem com rbST em doadoras ovinas, encontraram taxa de

recuperação de 72,2% no grupo controle e de 76,8% no grupo rbST. A taxa de embriões transferíveis foi mais alta em doadoras tratadas com rbST do que nas não tratadas (89,1% rbST x 60,8% controle), fato também comprovado, em ovelhas, por Navarrete-Sierra *et al.* (2008), quando aplicaram, em dose única, rbST no protocolo de superovulação (54,7% controle x 82,1% rbST). Segundo esses autores, isto se deve à ação positiva da rbST no processo final de maturação do oócito. Pavlok *et al.* (1996) afirmaram que a rbST também aumenta a concentração do IGF-I dentro do ambiente tubário, promovendo melhor fertilização.

O número médio de corpos lúteos em doadoras não tratadas e tratadas com rbST na superovulação foi de $6,85 \pm 6,87$ e $7,16 \pm 6,87$, respectivamente, sem diferença entre os grupos (Tab.1). Estes dados corroboram achados em ovelhas (Castro *et al.*, 2002), em cabras (Oliveira *et al.*, 2006) e em bovinos (Moreira *et al.*, 2002). Esses autores não encontraram aumento na resposta ovulatória de fêmeas tratadas com rbST no protocolo de superovulação. Os resultados estão próximos aos verificados por Folch *et al.* (2001) em ovelhas, que foram de $4,6 \pm 0,79$ e $7,7 \pm 1,47$ para as não tratadas e tratadas, respectivamente. Esses autores verificaram diferença entre os grupos de doadoras. Provavelmente, no presente estudo, não se tenha encontrado diferença no número médio de corpos lúteos entre as doadoras tratadas com rbST e as não tratadas em razão de a aplicação da rbST ter ocorrido no final do protocolo de superovulação, momento no qual os folículos encontravam-se na fase de dominância. Estudos confirmaram que a diferença entre o número de corpos lúteos de fêmeas tratadas com rbST e o de fêmeas não tratadas se verifica quando a aplicação da rbST ocorre na fase de recrutamento folicular, pois a rbST aumenta o número de folículos antrais recrutáveis e, conseqüentemente, o número de folículos ovulados e de corpos lúteos. Segundo Cushman *et al.* (2001) e Roth *et al.* (2002), o desenvolvimento de folículos antrais é mediado por aumento nas concentrações séricas de IGF-I. O aumento na população de folículos antrais também foi encontrado em ovelhas (Driancourt, 1991), bovinos (Buratini Júnior *et al.*, 2000; Roth *et al.*, 2002), búfalas (Sá Filho *et al.*, 2009) e cabras (Amorim *et al.*, 2007).

Qualidade do corpo lúteo...

Tabela 1. Médias e desvios-padrão de corpos lúteos (CL) em doadoras ovinas tratadas ou não com rbST no protocolo de superovulação

Grupo	CL1	CL2	CL _T
G1-controle (n=7)	5,28±6,94b (n=28)	9,42±6,60a (n=39)	6,85±6,87a (n=67)
G2-rbST (n=6)	9,00±6,94a (n=56)	4,16±6,60b (n=07)	7,16±6,87a (n=63)

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Wilcoxon (P<0,05). CL1: corpo lúteo tipo I; CL2: corpo lúteo tipo II; CL_T: corpo lúteo total.

Os dados demonstraram que as doadoras tratadas com rbST tiveram corpos lúteos de maiores tamanhos (CL1) quando comparadas com as não tratadas. Segundo Pavlok *et al.* (1996), a rbST potencializa a secreção de IGF-I, que acelera o crescimento do corpo lúteo. Lucy *et al.* (1992) afirmaram que a aplicação de rbST promove o aumento de tamanho e peso do corpo lúteo. O vermelho intenso verificado no tipo CL1 talvez seja pela maior irrigação sanguínea, pois o IGF-I tem efeitos direto e indireto na angiogênese (formação de vasos) do corpo lúteo, estimulando a proliferação e a diferenciação das células endoteliais (Schams e Berisha, 2004) e a produção de fator de crescimento endotélio-vascular (VEGF) nas células luteínicas (Schams *et al.*, 2001).

Não houve diferença estatística quanto ao estágio de mórula (Tab.2) entre os grupos de doadoras. As estruturas não fertilizadas foram menores no grupo de doadoras tratadas com rbST. Dados semelhantes também foram encontrados em doadoras ovinas (Folch *et al.*, 2001) e bovinas (Moreira *et al.*, 2002). Durante tratamentos superovulatórios, os folículos pré-ovulatórios

produzem alta concentração de estrógenos, que modifica o ambiente tubário, aumentando a taxa de oócitos não fertilizados ou de embriões degenerados. Acredita-se que a IGFBP induzida pela administração exógena da rbST module a produção do estrógeno, após o tratamento de superovulação, favorecendo, assim, a melhora no ambiente tubário, conseqüentemente, a fertilização (Echtemkamp e Howard, 1992; Folch *et al.*, 2001).

As doadoras ovinas tratadas com rbST tiveram aumento significativo no número médio de embriões em estágios de blastocisto (Tab. 2). Montero-Pardo *et al.* (2011) também encontraram maior proporção de embriões na fase de blastocisto quando aplicaram rbST em ovelhas. Talvez, a maior taxa de blastocisto se deva à melhor qualidade de oócitos, pois a rbST promove expansão do *cumulus* pela proliferação de células e inibição de apoptoses (Kolle *et al.*, 2003), e, também, pela melhora na maturação nuclear e citoplasmática do oócito (Bever e Izadyar, 2002), fatos comprovados na maturação *in vitro* de oócitos ovinos (Shirazi *et al.*, 2010) e bovinos (Modina *et al.*, 2007).

Tabela 2. Médias e desvios-padrão das estruturas recuperadas em doadoras ovinas tratadas ou não com rbST no protocolo de superovulação

Grupo	Estrutura recuperada		
	MO	BL	NF
G1-controle (n=7)	6,42±6,92a (n=21)	5,57±6,87b (n=10)	8,35±6,60b (n=19)
G2-rbST (n=6)	7,66±6,92a (n=23)	8,66±6,87a (n=18)	5,41±6,60a (n=05)

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Wilcoxon (P<0,05). MO: mórula; BL: blastocisto; NF: não fertilizado.

Os embriões de doadoras tratadas com rbST foram de qualidade superior aos de doadoras não tratadas (Tab.3). Em bovinos, foram encontrados resultados semelhantes por Moreira *et al.* (2002), e resultados divergentes por Moraes Júnior *et al.*

(2008). Em ovinos, não foram encontrados trabalhos com essa informação. Segundo Mtango *et al.* (2003), a somatotropina melhora a taxa de clivagem e o desenvolvimento embrionário.

Tabela 3. Médias e desvios-padrão do grau de qualidade de embriões recuperados em doadoras ovinas tratadas ou não com rbST no protocolo de superovulação

Grupo	Qualidade embrionária		
	Grau I	Grau II	Grau III
G1-controle (n=7)	2,00±0,78b (n=14)	2,14±0,85a (n=14)	0,28±0,18a (n=03)
G2-rbST (n=6)	4,33±1,68a (n=25)	2,00±0,73a (n=10)	0,50±0,34a (n=06)

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Wilcoxon (P<0,05).

Os valores de P4 não diferiram entre os grupos (Tab. 4). Esperava-se que, no dia da colheita embrionária (D20), as doadoras tratadas com rbST tivessem uma concentração maior de P4, pois sabe-se que a rbST estimula a função do CL e aumenta a produção desse hormônio (Lucy,

2000). Os resultados encontrados neste experimento divergem dessa informação. Montero-Pardo *et al.* (2011) também não encontraram diferença na concentração de P4 entre doadoras tratadas e não tratadas com rbST.

Tabela 4. Médias e desvios-padrão na concentração de P₄ em doadoras ovinas tratadas ou não com rbST no protocolo de superovulação

Grupo	P ₄ (ng/mL)		
	D0	D14	D20
G1 (n=7)	7,71±7,00	6,57±7,00	5,71±7,00
G2 (n=6)	6,16±7,00	7,50±7,00	8,50±7,00

Não houve diferença entre tratamentos (P>0,05) pelo teste de Wilcoxon. D0: colocação dos dispositivos intravaginais; D14: retirada dos dispositivos intravaginais; D20: colheita embrionária.

CONCLUSÕES

A rbST, em aplicação única no final do protocolo de superovulação, na dose de 125mg em ovelhas Santa Inês, não interfere na resposta superovulatória e na concentração de P₄, porém interfere positivamente na qualidade do corpo lúteo e na qualidade embrionária. Também, aumenta a proporção de embriões na fase de blastocisto e reduz a quantidade de oócitos não fertilizados.

REFERÊNCIAS

AMORIM, E.A.M.; TORRES, C.A.A.; AMORIM, L.S. *et al.* Dinâmica folicular em cabras da raça Toggenburg em lactação ou não com somatotropina bovina recombinante. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, p.1500-1508, 2007.

BEVERS, M.M.; IZADYAR, F. Role of growth hormone and growth hormone receptors in oocyte maturation. *Mol. Cell. Endocr.*, v.197, p.173-179, 2002.

BURATINI JÚNIOR, J.; PRICE, C.A.; VISINTIN, J.A. *et al.* Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotrophin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (Bos indicus) heifers. *Theriogenology*, v.54, p.421-431, 2000.

CASTRO, A.A.P.; NORO, M.; CECIM, M.A somatotrofina bovina recombinante sobre a ovulação, condição corporal e níveis séricos de colesterol e glicose em ovinos. *Cienc. Rural*, v.32, p.479-483, 2002

COGNIE, Y. State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, v.51, p.105-116, 1999.

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

DRIANCOURT, M.A. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*, v.35, p.55-71, 1991.

- ECHTEMKAMP, S.E.; HOWARD, H.J. Relationship between estradiol and insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP) in bovine ovarian follicular fluid. *J. Anim. Sci.*, v.70, p.260-64, 1992.
- FOLCH, J.; RAMON, J.P.; COCERO, J.L. Exogenous growth hormone improves the number of transferable. *Theriogenology*, v.55, p.1777-785, 2001.
- IZADYAR, F.; COLENBRANDER, B.; BEVERS, M.M. In vitro maturation of bovine oocytes in presence of growth hormone accelerates nuclear maturation and promotes subsequent embryonic development. *Mol. Reprod. Dev.*, v.45, p.372-377, 1996.
- ISHWAR A.K; MEMON, M.A. Embryo transfer in sheep and goats: a review. *Small Rum. Res.*, v.19, p.35-46, 1996.
- KOLLE S.; STOJKOVIC M.; BOIE G. *et al.* Growth hormone related effects on apoptosis, mitosis, and expression of connexin 43 in bovine in vitro maturation cumulus-oocyte complexes. *Biol. Reprod.*, v.68, p.1584-89, 2003.
- KOZICKI, L.E.; SEGUI, M.S.; FANTINI FILHO, J.C. *et al.* A somatotrofina bovina (bst) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. *Arch. Vet. Sci.*, v.10, p.35-44, 2005
- LUCY, M.C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J. Dairy Sci.*, v.83, p.1635-1647, 2000.
- LUCY, M.C.; BECK, J.; STAPLES, C.R. *et al.* Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor(IGF-1) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.32, p.331-341, 1992.
- MANUAL da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões - IEST. 3.ed. Illinois: Stringfellow, D.A. & Seidel, 1998. 180 p.
- MARKKULA, M.; MAKAREVICH, A. Insulin-like growth factor I increases the ratio of proliferating cell nuclear antigen positive cells of in vitro produced bovine embryos. *Theriogenology*, v.55, p.432, 2001.
- MODINA, S.; BORRAMEO, V.; LUCIANO, A.M. *et al.* Relacionamento entre concentrações da hormona de crescimento em oocytes bovinos e a competência desenvolvente folicular do líquido e do oocyte. *Euro J. Histoch.*, v.51, p.173-180, 2007.
- MONTERO-PARDO, A.; HERNÁNDEZ-CERÓN, J.; ROJAS-MAYA, S. *et al.* Increased cleavage and blastocyst rate in ewes treated with bovine somatotropin 5 days before the end of progestin-based estrous synchronization. *Anim. Reprod. Sci.*, v.125, p. 69-73, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science>. Acessado em: 1 mar. 2011.
- MORAES JÚNIOR, F.J.; TORRES JÚNIOR, J.R.; NASCIMENTO, I.M.R. *et al.* Efeito da somatotropina recombinante bovina (rbST) na resposta ovulatória e na qualidade dos embriões de vacas Nelore. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, v.10, p.162-173, 2008.
- MOREIRA, F.; BADINGA, L.; BURNLEY, C. *et al.* Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology*, v.57, p.1371-1387, 2002.
- MTANGO, N.R.; VARISANGA, M.D.; DONG, Y.J. *et al.* Growth factors and growth hormone enhance in vitro embryo production and post-thaw survival of vitrified bovine blastocysts. *Theriogenology*, v.59, p.1393-1402, 2003.
- NAGANO, A.Y.; WEISS, R.R.; BÜCHELE, J.M. *et al.* A somatotropina bovina recombinamento (rbst) na superovulação de fêmeas bovinas. *Arch. Vet. Sci.*, v.9, p.101-106, 2004.
- NAVARRETE-SIERRA, L.F.; TAMAYO, A.A.C.; PARRA, E.I.G. *et al.* Efecto de la aplicación de la hormona de crecimiento recombinante (rbST) sobre la respuesta superovulatoria y la viabilidad embrionaria en ovejas de pelo. *Rev. Cient.*, v.18, p.175-179, 2008.
- OLIVEIRA, P.F.N.M; COSTA, A.P.R; AZEVEDO, D.M.M.R *et al.* Superovulação em cabras SRD com FSH-p e somatotropina bvina recombinante. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, v.8, p.73-81, 2006.

- PAVLOK, A.; KOUTECKA, L.; KREJCI, P. *et al.* Effects of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.41, p.183-192, 1996.
- ROTH, Z.; ARAV, A.; BRAW-TAL, R. *et al.* Effect of treatment with follicle-stimulating hormone or bovine somatotropin on the quality of oocyte aspirated in the autumn from previously heat-stressed cows. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.1398-1405, 2002.
- SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; GIMENESA, L.U. *et al.* Effect of recombinant bovine somatotropin(bST) on follicular population and on in vitro buffalo embryo production. *Anim. Reprod. Sci.*, v.113, p.51-59, 2009.
- SCHAMS, D.; KOSMANN, M.; BERISHA, B. *et al.* Stimulatory and synergistic effects of luteinising hormone and insulin like growth factor 1 on the secretion of vascular endothelial growth factor and progesterone of cultured bovine granulosa cells. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, v.109, p.155-162, 2001.
- SCHAMS, D.; BERISHA, B. Regulation of corpus luteum function in cattle – an overview. *Reprod. Domes. Anim.*, v.39, p.241-251, 2004.
- SHIRAZI, A.; SHAMS-ESFANDABADI, N.; AHMADI, E. *et al.* Effects of growth hormone on nuclear maturation of ovine oocytes and subsequent embryo development. *Reprod. Domest. Anim.*, v.45, p.530–536, 2010.
- STATISTICAL Analysis System – SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT, User's Guide, release 6.11.ed. Cary: SAS Institute, 2002.