

Efeito do pré-tratamento da somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a dinâmica hormonal e produção *in vitro* de embriões bovinos

Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) pretreatment on hormonal dynamics and in vitro production of bovine embryos

Sérgio Henrique Costa Júnior^{1*}, Hallef Mitchel Pereira Trovão¹, Brenda Karine Lima do Amaral²,
Luciana Cordeiro Rosa¹, Felipe de Jesus Moraes Júnior³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, São Luís, Maranhão, Brasil, CEP: 65035-330, ²Médica Veterinária, São Luís, Maranhão, Brasil, ³Universidade Estadual do Maranhão, Departamento das Clínicas, São Luís, Maranhão, Brasil

Resumo

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) consiste na obtenção de embriões viáveis a partir de fêmeas saudáveis maximizando o uso de animais de alto valor genético. O uso da somatotropina recombinante bovina (rbST) antes do início das sessões de *Ovum pick-up* (OPU) pode ser um valioso recurso para aumentar o número e a qualidade dos oócitos e embriões *in vitro* e sua ação na dinâmica hormonal da progesterona, estradiol, hormônio do crescimento e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1. Doze animais foram divididos em três grupos experimentais: controle, 250mg e 500mg de rbST submetidos a OPU semanais e foram considerados viáveis os complexos cumulus-oócito de graus I, II e III para a PIVE. As amostras sanguíneas ocorreram 60 dias antes da primeira aspiração, em intervalos de 12 dias e coletas realizadas nos mesmos dias das aplicações de rbST e durante as aspirações foliculares. A rbST não influenciou na taxa de desenvolvimento embrionário *in vitro* de fêmeas bovinas da raça Girolando, assim como não causou efeito sobre a dinâmica hormonal nas concentrações plasmáticas de progesterona, estradiol e IGF-1 comparado aos grupos tratados com 250 mg e 500 mg e o grupo controle, não havendo variância significativa entre os dias de aplicação e OPUs.

Palavras-chave: Bovino, PIV, rbST.

Abstract

In vitro embryo production consists of obtaining viable embryos from healthy females, maximizing the use of animals of high genetic value. The use of bovine recombinant somatotropin (rbST) before the start of Ovum pick-up (OPU) sessions can be a valuable resource to increase the number and quality of oocytes and embryos in vitro and their action on the hormonal dynamics of progesterone, estradiol, growth hormone and insulin-like growth factor 1. Twelve animals were divided into three experimental groups: control, 250mg and 500mg of rbST submitted to weekly OPU to obtain oocytes for IVP. Blood samples occurred 60 days before the first aspiration, at 12-day intervals and collections were performed on the same days as the rbST applications and during follicular aspirations. The rbST did not influence the in vitro embryonic development rate of Girolando bovine females, nor did it have an effect on the hormonal dynamics in the plasma concentrations of progesterone, estradiol and IGF-1 compared to the groups treated with 250 mg and 500 mg and the control group, with no significant variance between application days and OPUs.

Keywords: Bovine, IVP, rbST.

Introdução

Com um rebanho comercial superior a 187,5 milhões de bovinos, o Brasil é o maior do mundo e também o principal exportador de carne (ABIEC, 2023). Entretanto, a pecuária de corte brasileira ainda apresenta limitações na eficiência reprodutiva, sobretudo quando comparada a países líderes na produção de carne, como os Estados Unidos (Baruselli et al., 2019).

A crescente pressão por aumento de produtividade na bovinocultura tem fomentado a adoção de biotecnologias reprodutivas, sendo a produção *in vitro* de embriões (PIVE) uma das estratégias mais proeminentes. Tal técnica possibilita a manipulação controlada de oócitos e espermatozoides, viabilizando

¹Correspondência: sergiocosta94@outlook.com

Recebido: 30 de agosto de 2021

Aceito: 11 de novembro de 2025



a obtenção de embriões de elevada qualidade, o que potencializa o melhoramento genético e encurta o intervalo entre gerações. Apesar dos avanços significativos, persistem limitações concernentes à variabilidade entre fêmeas doadoras e aos elevados custos operacionais, fatores que ainda restringem a implementação em larga escala da PIVE (Carvalho et al., 2018; Vieira et al., 2021; Maciel et al., 2025).

A PIV de embriões consiste na recuperação de oócitos imaturos de folículos ovarianos, sendo uma biotécnica que permite a intensificação do uso de animais de alto valor genético obtendo resultados comparáveis ou superiores àqueles obtidos pela tecnologia tradicional de produção *in vivo* de embriões (Merton et al., 2003). Esta biotécnica constitui-se nas seguintes etapas: aspiração folicular *post-mortem* ou *Ovum Pick-up* (OPU), maturação *in vitro* (MIV), fertilização *in vitro* (FIV), cultivo *in vitro* (CIV) e, por fim a transferência de embriões (TE) para as fêmeas receptoras denominado de inovulação.

A taxa de embriões obtidos ainda é considerada baixa (Bera et al., 2025), e os percentuais de gestação após a inovulação variam entre 40% e 55% (Ribeiro Filho et al., 2011; Grazia et al., 2021; Trenkel et al., 2022). Nesse contexto, novas estratégias e protocolos precisam ser estudados visando resultados mais satisfatórios, considerando que a qualidade e a viabilidade dos embriões produzidos *in vitro* são inferiores às dos embriões obtidos *in vivo* (Reichenbach, 2003).

A manipulação da dinâmica folicular em bovinos permitiu maior disponibilização de complexos cumulus-oócito (CCOs). Dessa forma, a qualidade e a integridade dos CCOs o sucesso da fertilização *in vitro*, assim como a competência do desenvolvimento até o estágio de embrião (Takada, 2008). Estudos comprovam que a utilização comercial da rbST atenua a quantidade de estruturas não fertilizadas, melhora a taxa de sobrevivência embrionária bem como acelera o desenvolvimento embrionário (Thatcher et al., 2001; Moreira et al., 2002).

De acordo com Pavlok et al. (1996), a administração de somatotropina recombinante bovina (rbST) pode favorecer a melhoria da qualidade oocitária em fêmeas previamente tratadas, possivelmente em decorrência de alterações metabólicas e endócrinas que influenciam o microambiente folicular. Contudo, a literatura permanece inconclusiva quanto às concentrações ideais da rbST que resultam em respostas reprodutivas uniformes, bem como sobre a variabilidade de seus efeitos entre diferentes raças bovinas.

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar a aplicação da rbST antes das sessões de aspiração folicular (OPU) como estratégia para incrementar o número e a qualidade dos complexos cumulus-oócito (CCOs) recuperados *in vivo*, além de analisar seu impacto sobre o desenvolvimento embrionário *in vitro* e sobre a modulação do eixo endócrino-reprodutivo em vacas da raça Girolando.

Material e Métodos

Comitê de ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal – CEEA/UEMA, conforme protocolo nº 013/2016.

Local

O experimento foi conduzido no Laboratório de Reprodução Animal (LABRA) da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) com as colheitas dos CCOs por aspiração transvaginal dos folículos ovarianos de animais oriundas do núcleo de ruminantes do CCA/UEMA. As fêmeas da raça Girolando (n=12) foram divididos em três grupos experimentais: controle 0 mg (n= 4), 250 mg (n= 4) e 500 mg (n= 4) de rbST (Boostin®, MSD, Brasil). Cada grupo foi formado com três vacas e uma novilha. As aplicações de rbST ocorreram em intervalos de 12 dias, sendo realizadas cinco seções de *Ovum Pick-Up* (OPU) em intervalos de 7 dias nos grupos experimentais (Fig.1).

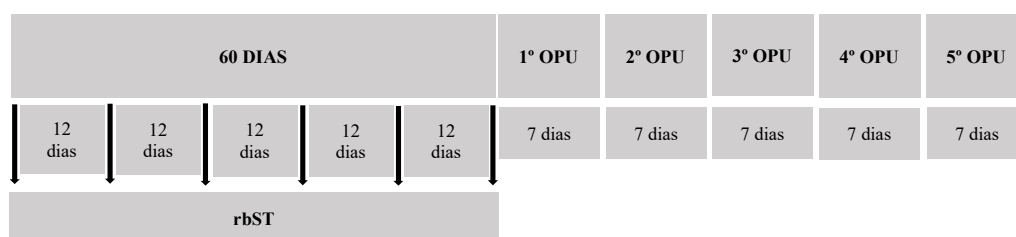




Figura 1. Protocolo de aplicação do rbST e as seções de OPU's dos grupos experimentais.

Punção folicular transvaginal guiada por ultrassonografia ou "Ovum Pick-Up" (OPU)

As doadoras foram imobilizadas em tronco de contenção, submetidas à anestesia epidural com 5mL de cloridrato de lidocaína a 2%, com antisepsia da região perineal com água, sabão neutro e álcool a 70%. A OPU foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Pieterse et al. (1988) e adaptada por Seneda et al. (2003), com o uso da ultrassonografia (CHISSON D600 VET, US Products Eletromedicina, Brasil), com transdutor convexo de 5,0 MHz acoplado à uma guia de aspiração transvaginal (WTA Ltda., Brasil).

As aspirações foram realizadas com agulhas descartáveis 20 G (WTA Ltda., Brasil), acoplada a uma tubulação de silicone com 2 mm de diâmetro e 80 cm de comprimento (WTA Ltda., Brasil), conectada a um tubo cônico de 50 mL contendo 10 mL de meio LAV (1mL de PBS, 12,5 UI de heparina).

A pressão da bomba a vácuo (WTA, BV-003) foi mantida entre 35 e 50 mmHg (fluxo de 15mL de meio/min.). A guia de aspiração foi introduzida na vagina, posicionada no fundo de saco vaginal, junto à fôrnx cervical e, com o auxílio da manipulação transretal, os ovários foram posicionados na linha de punção indicada na tela do aparelho de ultrassonografia onde os folículos acima de 2 mm foram punccionados e aspirados.

O material aspirado em tubo de 50 mL foi transferido para um filtro de coleta de embriões (Nutricell®) e lavado com PBS a 37°C. O conteúdo folicular aspirado foi depositado em placas de Petri de 100x20 mm para a pesquisa sob lupa estereomicroscópica (NOVA Optical Systems).

Os complexos cumulus-oócito (CCOs) foram transferidos para placas de 30x15 mm contendo TCM 199 (acrescido com tampão HEPES, antibiótico – penicilina e estreptomicina- e soro fetal bovino) e classificados de acordo com a qualidade morfológica em Graus I, II, III e IV, conforme Leibfried & First (1979), somente os GI, GII e GIII foram considerados viáveis.

Produção in vitro (PIV) de embriões

Os CCOs foram lavados quatro vezes em gotas contendo meio de MIV (Nutricell®) em placas de Petri de 100 x 20 mm, sendo em seguida transferidos para microgotas contendo 100 µL de meio de MIV em cada placa de Petri de 60 x 15 mm, enumeradas e contendo dez gotas de MIV recobertas por óleo mineral (SIGMA-ALDRICH, EUA) à temperatura de 38,8°C, em atmosfera gasosa de 5% de CO₂. Grupos de até 15 CCOs foram colocados em cada microgota, sendo individualizadas por animal. O período de MIV ocorreu em 24 horas contados a partir do momento da colocação dos CCOs em meio MIV.

Os CCOs maturados foram lavados três vezes em 1000µL de meio de fecundação (Nutricell®) suplementado com 10 UI/mL de heparina e 1,64 µM de solução PHE (Nutricell®). O sêmen foi proveniente de uma única partida comercial de touro da raça Gir Leiteiro PO e foi descongelado em água a 37°C por 30 segundos, sendo em seguida depositado em eppendorf de 1mL, sobre um gradiente de Percoll de 90 e 45% (Nutricell®) e submetido a uma força de centrifugação de 968 g durante 10 minutos. Posteriormente, os espermatozoides (sptz) no fundo do tubo criogênico foram retirados e colocados em 1mL de meio de capacitação (CAP; Nutricell®), sendo submetidos novamente à centrifugação a 968 g por 5 minutos.

Após a segunda centrifugação, o excesso de meio CAP foi retirado sendo adicionada o mesmo volume de meio FIV (Nutricell®) suplementado com 10 UI/mL de heparina e 1,64 µM de solução PHE. Em seguida, retirou-se 5µL da suspensão e depositou em 95µL de água para a determinação da concentração espermática pela contagem das células espermáticas em câmara de Neubauer. A concentração espermática final foi ajustada para 25 x 10⁶ sptz vivos/mL. Posteriormente, os CCOs e os sptz foram coincubados em temperatura de 38,8°C por 22 horas em 5% de CO₂.

O cultivo *in vitro* (CIV) ocorreu após os presumíveis zigotos passarem por três vezes lavagens em gotas de meio SOF (Nutricell®) e depositados em gotas de 100µL do mesmo meio, recobertas por óleo mineral em placa de Petri. O desenvolvimento embrionário deu-se a partir do D0 (FIV), com avaliações do D3, D7 e D9 para obtenção de taxas de clivagem, blastocistos e eclosão, respectivamente.

Dosagens Hormonais

As fêmeas foram divididas em três grupos: controle (n=2), 250 mg rbST (n=3) e 500 mg rbST (n=3). As amostras de sangue (plasma) foram coletadas de cada fêmea doadora 60 dias antes da primeira sessão de OPU, em intervalos de 12 dias, com as coletas realizadas nos mesmos dias das aplicações de rbST



e das aspirações foliculares (intervalos de 7 dias), diretamente da veia ou artéria coccígea, em tubos a vácuo heparinizados do tipo Vacutainer® (BD, EUA), e centrifugados (Centrífuga Fanem Excelsa Baby II, Modelo 206, Fanem, Brasil) a 1098 g por 15 minutos.

O plasma foi aliquotado em duplicatas em eppendorfs de 2mL, e armazenados em freezer a -80°C com posterior determinação das concentrações plasmáticas hormonais pelo teste ELISA, desenvolvido de acordo com as especificações do fabricante.

Delineamento Experimental e Análise Estatística

O estudo ocorreu inteiramente ao acaso com três tratamentos (controle, 250mg e 500mg) em 12 repetições (número de animais), tratadas previamente com a rbST, sendo cinco aplicações ao longo de 60 dias, e 5 sessões de OPU-PIV como fatores principais.

Os dados para as variáveis (taxa de clivagem, taxa de blastocisto, total e proporção de embriões viáveis, proporção dos estádios de desenvolvimento e qualidade embrionária) foram submetidas ao teste de normalidade; os dados normais e os normalizados mediante transformações matemáticas (logarítmica, arco seno) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ou ao teste não - paramétrico de Wilcoxon para comparação de médias, na probabilidade de 5%.

Na avaliação das concentrações hormonais, o delineamento foi dado inteiramente ao acaso em três tratamentos (controle, 250 mg e 500 mg x animais) e 8 repetições (número de animais), seis aplicações de rbST prévias e cinco sessões de OPU. As concentrações plasmáticas de progesterona (P4), estradiol (E2), hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) foram submetidas ao Teste de normalidade Cramer-von Mises e para comparação de média foi Student-Newman-Keuls (SNK) 5% de probabilidade. Dados qualitativos foram comparados pelo teste do Qui-quadrado, para $P < 0,05$. As análises foram executadas utilizando o programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, 2015).

Resultados

Das cinco sessões de OPU, obteve-se média e desvio padrão de CCOs totais ($9,85 \pm 6,83$; $7,75 \pm 3,09$ e $8,50 \pm 6,34$) e CCOs viáveis ($8,10 \pm 5,26$; $5,60 \pm 2,66$ e $5,27 \pm 5,96$) de acordo com os tratamentos: controle, 250 mg rbST e 500 mg rbST, respectivamente, a partir das fêmeas aspiradas.

As taxas de clivagem dos grupos são representadas na Tab. 1. Os grupos controle, 250mg e 500mg não apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 1. Taxa de clivagem (D3) de CCOs de fêmeas bovinas da raça Girolando utilizados para a PIV de embriões, submetidas ou não ao tratamento com rbST em intervalo de doze dias.

Desenvolvimento Embrionário	TRATAMENTOS								
	Controle			250mg			500mg		
Taxa de Clivagem	Clivados	N	%	Clivados	n	%	Clivados	n	%
	84	162	51,85 ^a	58	112	51,78 ^a	54	95	56,86 ^a

^{a,b}Números seguidos de letras desiguais na linha diferem estatisticamente, para $P < 0,05$.

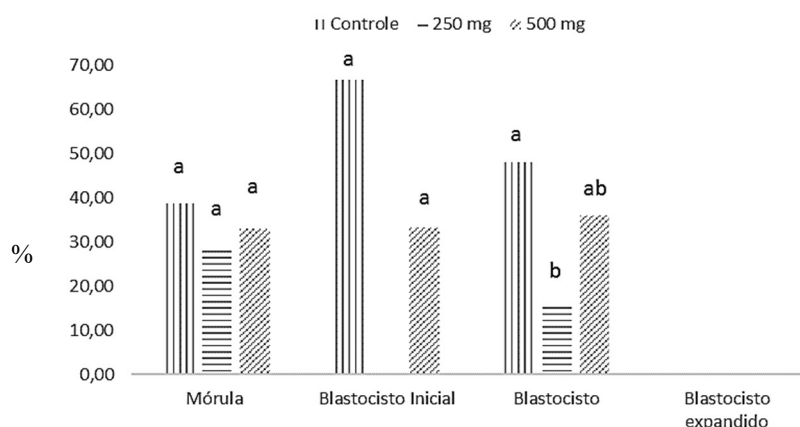
As taxas de mórulas e blastocistos *in vitro* estão representadas na Tab. 2. O grupo 500mg foi melhor estatisticamente em relação aos grupos controle e 250mg no desenvolvimento embrionário no D7. Não houve diferença estatística entre os grupos controle e 250mg de rbST submetidos ao protocolo experimental.

Tabela 2. Taxa de desenvolvimento embrionário de CCOs de fêmeas bovinas da raça Girolando utilizados para a PIV de embriões, submetidas ou não ao tratamento com rbST em intervalos de doze dias.

Desenvolvimento Embrionário	TRATAMENTOS								
	Controle			250mg			500mg		
Taxa de mórula e blastocisto	CIV	N	%	CIV	n	%	CIV	n	%
	162	55	33,95 ^b	112	34	30,35 ^b	95	45	47,36 ^a

^{a,b}Números seguidos de letras desiguais na linha diferem estatisticamente, para $P < 0,05$.

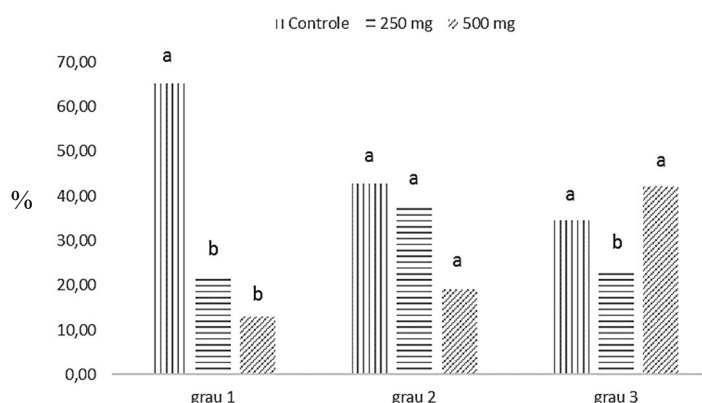
Em relação ao estágio de desenvolvimento embrionário (Fig. 2.), a proporção de mórulas entre os tratamentos (controle, 250mg e 500mg) não obteve diferença estatística ($p < 0,05$). A taxa de blastocisto inicial não apresentou diferença estatística entre os grupos, sendo que o grupo 250mg não apresentou blastocistos iniciais. A proporção de blastocistos para o grupo 500mg não apresentou diferença estatística dos tratamentos controle e 250mg, porém os grupos controle e 250mg foram estatisticamente diferentes entre si.



^{a,b}Colunas com sobrescrito desiguais diferem estatisticamente, $P < 0,05$.

Figura 2. Taxa de desenvolvimento embrionário (%), com base na qualidade morfológica, para embriões produzidos *in vitro* a partir de CCOs aspirados *in vivo* por OPU de fêmeas bovinas.

Em relação a qualidade morfológica do embrião (Fig. 3), a proporção de embriões grau 1 no grupo controle foi estatisticamente superior aos grupos tratados com rbST, não havendo diferença estatística entre os grupos 250mg e 500mg. A proporção de embriões grau 2 não diferiu entre os grupos em estudo. Para embriões grau 3, não houve diferença significativa entre os grupos controle e 500mg, porém o grupo 250mg diferiu aos demais tratamentos.



^{a,b}Colunas com sobrescrito desiguais diferem estatisticamente, $p < 0,05$.

Figura 3. Taxa de desenvolvimento embrionário (%), com base na qualidade morfológica, para embriões produzidos *in vitro* a partir de CCOs aspirados *in vivo* por OPU de fêmeas bovinas.

As concentrações médias de progesterona durante o período de aplicação de rbST (A) e aspirações foliculares (OPU) em fêmeas bovinas estão representadas na (Fig. 4) e demonstraram variação ($p < 0,05$) entre os dias de coleta das amostras. Estas foram inferiores a 8 ng/mL para todos os animais dos

três grupos monitorados durante o período das aplicações do hormônio, com posterior emergência para valores superiores a 10ng/mL durante o período das OPU's.

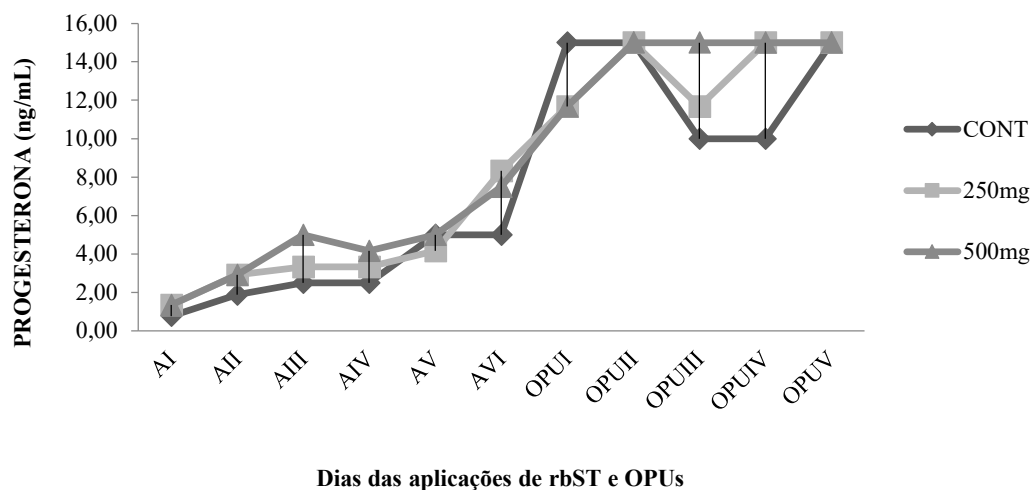


Figura 4. Média das concentrações plasmáticas de progesterona de fêmeas bovinas não tratadas (◆) e tratadas com 250mg (■) ou 500mg (▲) com somatotropina recombinante bovina nos dias de sua aplicação e aspiração *Ovum pick-up*.

Nesta pesquisa, os grupos experimentais tratados e não tratados com somatotropina recombinante bovina e entre os dias das aplicações e OPU's não foi observada diferença estatística nas concentrações plasmáticas médias de estradiol (Fig. 5).

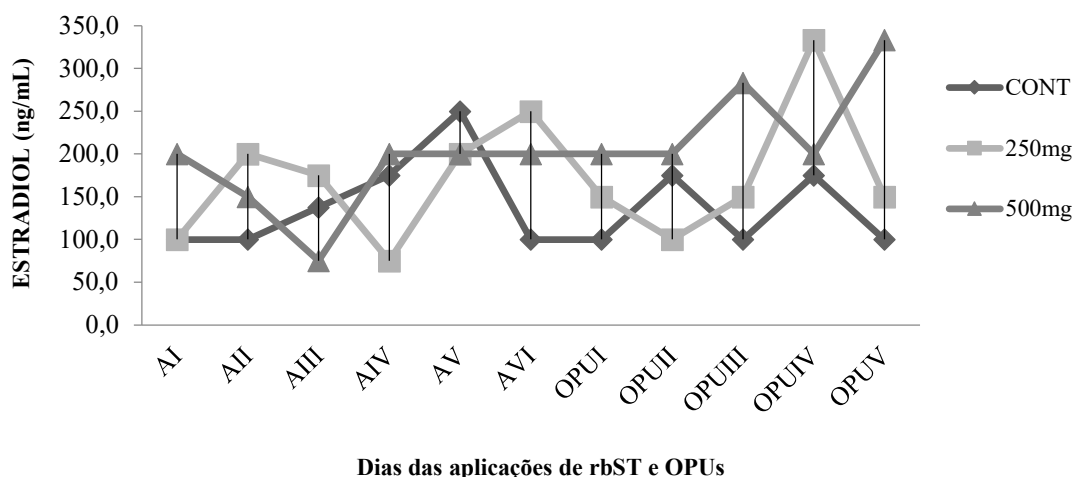
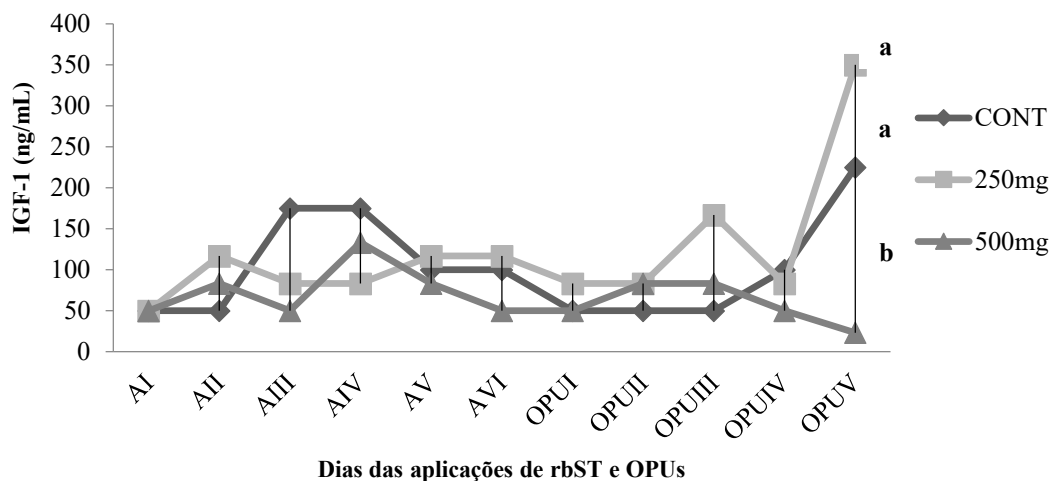


Figura 5. Média das concentrações plasmáticas de estradiol de fêmeas bovinas não tratadas (◆) e tratadas com 250mg (■) ou 500mg (▲) com somatotropina recombinante bovina nos dias de sua aplicação e aspiração *Ovum pick-up*.

As concentrações plasmáticas médias de estradiol dos animais variaram no grupo controle de 100 a 137 ng/mL; grupo tratado com 250 mg de rbST de 75 a 333,3 ng/mL; e grupo tratado com 500 mg de rbST de 75 a 333,3 ng/mL durante todo o período experimental.

Os níveis circulantes de IGF-1 (Fig. 6) não tiveram interação significativa entre os tratamentos e entre os períodos de aplicação/OPUs ($P < 0,05$), exceto durante a última OPU, onde o grupo tratado com 500mg de rbST obteve média de 23,33 ng/mL, estando abaixo das outras médias encontradas durante o período experimental (frequentemente superiores a 50 ng/mL).

Neste trabalho, as maiores amplitudes das concentrações séricas médias de IGF-1 foram encontradas na proporção de 225 ng/mL (OPUV), 350 ng/mL (OPUV) e 133,33 (AIV) para os grupos controle, 250mg e 500mg, respectivamente, indicando homogeneidade entre os grupos na concentração sérica dessa variável.



^{a,b}Letras diferentes indicam diferença significativa ($P<0,05$).

Figura 6. Média das concentrações plasmáticas de IGF-1 de fêmeas bovinas não tratadas (♦) e tratadas com 250mg (■) ou 500mg (▲) com somatotropina recombinante bovina nos dias de sua aplicação e aspiração *Ovum pick-up*.

Discussão

Ramos et al. (2007) obtiveram resultados divergentes ao submeter vacas zebuínas a protocolos com 0mg de rbST e 160 mg de rbST (Boostin®, Coopers) obtendo, respectivamente, 46,11% e 60,47%, o que não corrobora com o presente estudo que utilizou doses de 250 mg e 500mg de rbST nos grupos e não houve diferença estatística na taxa de clivagem. Tripp et al. (2000) e Bols et al. (1998) não obtiveram aumento nas taxas de clivagem e produção de blastocistos após a utilização de rbST *in vivo*.

A rbST aumenta o número de folículos grandes, melhora a viabilidade dos oócitos recuperados, porém não influenciando na maturação *in vitro* em fêmeas da raça Sindi na dose de 500mg (Ribeiro et al., 2020), no presente estudo a taxa de maturação não foi verificada.

Segundo Rieger et al. (1991), as doses hormonais de rbST necessárias para conseguir estimular os ovários devem ser maiores que as utilizadas para aumentar a produção de leite. A administração da rbST associada a outras gonadotrofinas proporciona taxas embrionárias *in vitro* satisfatórias, como Ramos et al. (2007) que obtiveram 50,34% de clivagem utilizando protocolo com rbST e FSH sendo superior ao grupo controle. No entanto, Moraes Júnior et al. (2008) observaram que a associação e não-associação de rbST com FSH não influenciou nas proporções de estruturas durante o desenvolvimento embrionário.

A somatotropina recombinante bovina promove crescimento tecidual, através do aumento do tamanho celular como no incremento do número de mitoses que favorece o surgimento de um número maior de células (Lucci et al., 1998), a associação desta a outros hormônios poderia aumentar as taxas obtidas no presente estudo. Lucy et al. (1996), atribuem os efeitos diretos e indiretos a este hormônio, pois a rbST aumenta as concentrações IGF-1, podendo melhorar a qualidade embrionária, o que não foi observado nesta pesquisa.

Moraes Júnior et al. (2010) submeteram fêmeas mestiças (Guzerá x Holandês) ao mesmo tratamento com rbST do presente estudo obtendo 41,3%, 35,2% e 36,0% de desenvolvimento embrionário dos grupos controle, 250 mg e 500 mg, respectivamente, não corroborando aos dados obtidos ao submeter fêmeas mestiças ao protocolo com rbST onde o grupo 500 mg foi superior aos demais tratamentos.

Muitos autores têm relatado que o uso de rbST aumenta o número de embriões viáveis, Neves et al. (2005) obtiveram nos grupos controle, 250 mg e 500 mg, respectivamente, 39,37%, 63,11% e 54,03%, o que difere do presente estudo onde as aplicações de rbST não influenciou na proporção de embriões



viáveis. Payano et al. (2025), observaram que a administração de rbST em vacas Brown Swiss no início da lactação não aumentou significativamente o número total de embriões recuperados, mas teve efeito positivo sobre a qualidade e viabilidade dos embriões.

Coelho (1986), ao obter embriões no D7 de superovulação, também não observou diferença ($P>0,05$) nas médias de mórulas e blastocistos em *Bos taurus taurus*, assim como no número de mórulas e mórulas compactas em *Bos taurus indicus*, evidenciando variabilidade individual no desenvolvimento e na qualidade embrionária.

Borges et al. (2001) obtiveram taxas de mórulas de 34,5% e 54,6% nos grupos controle e 500 mg de rbST, respectivamente, corroborando ao presente estudo onde a somatotropina recombinante bovina não influenciou na resposta superovulatória. De acordo Ramos et al. (2007), estas variações nos resultados podem estar relacionadas à influência direta ou indireta no microambiente folicular e ou no próprio oócito, assim como protocolos de superovulação recentes.

Bezerra (2009) obteve um maior número de blastocisto inicial no grupo que recebeu 500 mg de rbST em relação aos demais grupos, o que não corrobora no presente estudo onde o efeito da rbST não influenciou na taxa de blastocistos iniciais. Resultado similar foi obtido por Borges et al. (2001), onde a rbST não influenciou na proporção de blastocistos iniciais nos grupos controle e 500 mg, 33,8% e 54,6%, respectivamente.

Ramos et al. (2007) obtiveram dos grupos controle e rbST (160mg) taxa de blastocistos de 7,78% e 19,38%, respectivamente, onde foi evidenciada a superioridade do grupo submetido ao protocolo hormonal, não corroborando com os resultados obtidos no presente estudo, onde a dose de 500mg não proporcionou taxas superiores aos demais grupos.

Um fator que pode ter contribuído para a não influência da rbST sobre as estruturas colhidas e embriões viáveis, foi a dose utilizada, pois, segundo Rieger et al. (1991), em vacas da raça holandesa, para estímulo dos ovários são necessárias doses maiores que 500 mg de rbST. De modo geral, fêmeas zebrúinas necessitam de menor dose hormonal para estimulação ovariana quando comparada com fêmeas de raças europeias. Na presente pesquisa a raça foi Girolanda e a dose utilizada 250mg e 500mg.

Não foi obtido taxas de blastocistos expandidos nos grupos controle e submetidos as aplicações de rbST. Borges et al. (2001) submeteram fêmeas mestiças (Holandês x Zebu) em dois grupos: controle e 500mg de rbST, onde não houve influência do hormônio obtendo 2,2% e 6,0%, respectivamente, de blastocistos expandidos.

Neves et al. (2005) estudaram o efeito da rbST sobre o número e qualidade dos embriões, em vacas, distribuídas aleatoriamente em três grupos: controle, tratadas com 250mg e 500mg de rbST, no sexto dia do ciclo estral. Os autores constataram que tanto a administração de 250 como de 500mg de rbST aumentaram a qualidade embrionária.

Maffili et al. (2001) descreveram que o uso da rbST, em associação com a superovulação não aumentou a quantidade de embriões produzidos, mas melhorou o desenvolvimento e a qualidade dos embriões. Além da categoria animal, raça e dose, outros fatores podem ter interferido nos resultados como a idade, a época do ano e o número de superovulações (Cushman et al., 2001).

Gassenferth et al. (2025) observaram que os grupos experimentais com rbST resultaram menor taxa de prenhez, do diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) e taxa de crescimento folicular quando comparado a eCG, em vacas baixo escore corporal na inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Resultados similares foram obtidos por Oosthuizen et al. (2018) na administração de rbST em novilhas no início da IATF, contrapondo Kaminski et al. (2019) que o uso da rbST no início do protocolo de sincronização folicular promoveu maior taxa de crescimento dos folículos, aumento do diâmetro do FPO e na taxa de ovulação.

Essa divergência de resultados pode estar relacionada ao estado nutricional dos animais, uma vez que o balanço energético negativo e a baixa condição corporal podem comprometer a ação da rbST, reduzindo sua eficiência sobre a dinâmica folicular e o ambiente endócrino.

Neste estudo, não foi observada diferença estatística nas concentrações plasmáticas de progesterona entre os grupos tratados com diferentes doses de rbST e o grupo não tratado. Estes dados corroboram com os resultados obtidos por Da Silva Haas et al. (2007) que, com a aplicação única de 250 mg de rbST em novilhas mestiças receptoras de embrião durante o estro, não observaram efeito na concentração sérica de progesterona entre o sexto e o oitavo dia.

Entretanto, Borges et al. (2001) obtiveram médias das concentrações plasmáticas de P4 para o grupo tratado com dose de 500 mg de somatotropina recombinante bovina inferiores ao do grupo não

tratado, utilizando novilhas mestiças holandês-zebu. Segundo Foxcroft et al. (2000), o *clearance* hormonal da progesterona pode ocorrer devido ao aumento no metabolismo e no fluxo sanguíneo hepático causado pela rbST.

Gallo & Block (1991), no entanto, reportaram aumento nas concentrações sérica de P₄ com a utilização de doses de 320 mg e 600 mg de rbST por 28 dias em vacas Holandesas em lactação, em concordância ainda com Schemm et al. (1990) que, utilizando vacas da mesma raça e durante a lactação, obtiveram concentrações séricas de progesterona superiores em relação ao grupo não tratado, fazendo uso da somatotropina recombinante bovina em 25 mg com doses diárias durante 200 dias.

Esses dados podem sugerir que o possível aumento na concentração sérica de P₄ pode estar relacionado com a frequência de administração exógena do hormônio.

Nesta pesquisa, os grupos experimentais tratados e não tratados com somatotropina recombinante bovina e entre os dias das aplicações e OPUs não foi observada diferença estatística nas concentrações plasmáticas médias de estradiol (Figura 5), ou seja, a somatotropina recombinante bovina não surtiu efeito positivo ou negativo sobre o estradiol plasmático. O protocolo de múltiplas doses de rbST é promove um incremento na população folicular em vacas, conforme achado de Rincón et al. (2019) que uma única administração de rbST não possui efeito a longo prazo na foliculogênese e esteroidogênese.

As concentrações plasmáticas médias de estradiol dos animais variaram no grupo controle de 100 a 137 ng/mL; grupo tratado com 250 mg de rbST de 75 a 333,3 ng/mL; e grupo tratado com 500 mg de rbST de 75 a 333,3 ng/mL durante todo o período experimental.

Em um estudo realizado utilizando ovários de abatedouro com isolamento e cultivo *in vitro* das células da granulosa de bovinos com meio adicionado de rbST não foi observado efeito significativo desse hormônio sobre a produção de estradiol frente ao grupo não tratado (Jimenez-Krassel & Ireland, 2002). *In vivo*, Schemm et al. (1990) também não observou efeito positivos da rbST sobre a flutuação sérica de E₂. Em contrapartida, Andrade et al. (1996) em experimento utilizando a rbST em protocolos de indução e sincronização de cio de bovinos constatou aumento nos níveis plasmáticos de E₂, hipotetizando sua ação sobre a foliculogênese.

Os níveis circulantes de IGF-1 não tiveram interação significativa entre os tratamentos e entre os períodos de aplicação/OPUs ($P < 0,05$), exceto durante a última OPU, onde o grupo tratado com 500mg de rbST obteve média de 23,33 ng/mL, estando abaixo das outras médias encontradas durante o período experimental (frequentemente superiores a 50 ng/mL).

Entretanto, estes dados diferem dos encontrados por Pauletti et al. (2005) que, trabalhando com vacas holandesas prenhes, administraram 500 mg de rbST 35 dias antecedendo o parto, em intervalos de 14 dias, e observaram valores médios na segunda semana de 203,89 ng/mL para o grupo tratado vs 80,00 ng/mL para o grupo controle. Moreira et al. (2002) acompanharam bezerras Simbrasil por 150 dias, após aplicação de 250mg de rbST em intervalos de 14 dias, e observaram aumento nas flutuações séricas de IGF-1, com média de 188,6 ng/mL.

Todavia, os achados deste estudo corroboram com os encontrados em estudo utilizando vacas com período seco de aproximadamente 60 dias, onde o pico de concentração de IGF-I sérico foi de 163 ng/mL aos 34 dias pré-parto e de 40 ng/mL duas semanas pré-parto (Vega et al., 1991), sem qualquer tratamento hormonal.

É válido ressaltar que esse aumento é dependente, também, do plano de nutrição, incluindo porcentagem de energia e proteína na dieta. Animais bem nutridos correspondem ao tratamento com rbST, elevando os níveis séricos de IGF-I, enquanto animais com alguma restrição nutricional exibem pouco ou nenhum aumento nas concentrações de IGF-I (Armstrong et al., 1998).

Segundo Pinto Andrade et al. (1996), a ação da somatotropina sobre a função ovariana estão relacionadas a utilização de nutrientes e ao padrão de aporte conduzidos a estes tecidos. A diminuição no consumo ou baixa qualidade de alimentos pode reduzir a magnitude dessas respostas (Rausch et al., 2002), onde as concentrações séricas do IGF mudam em resposta à condição nutricional (Lucy, 2000).

Isso pode sugerir que a resposta nula da somatotropina recombinante bovina sobre os níveis circulantes de IGF-1, neste trabalho, pode advir da condição de escore corporal dos animais utilizados nos grupos experimentais, que estavam entre 2 – 2,5, segundo o escore da condição corporal entre 1 a 5 (1 = muito magra, 5 = muito gorda). Um fator sugerido para justificar o aumento da fertilidade foi descrito por Hernández-Cerón e Gutiérrez-Aguilar (2013), os quais relataram que a administração de somatotropina bovina promove elevação na secreção de IGF-I, atuando sobre as células do cumulus melhorando a qualidade dos oócitos, posteriormente confirmado em novilhas no início da IATF (Oosthuizen et al. 2018)



Conclusão

A administração de somatotropina bovina recombinante (rbST) não promoveu diferenças significativas no desenvolvimento embrionário *in vitro* nem nas concentrações plasmáticas de P4, E2 e IGF-1 entre os grupos tratados e o controle. Assim, nas condições avaliadas, a rbST não influenciou de forma relevante os parâmetros hormonais e reprodutivos, sugere-se novos estudos sejam conduzidos para elucidar os possíveis efeitos da rbST sobre o desempenho reprodutivo bovino.

Referências

- ABIEC. Perfil da Pecuária do Brasil. 2023 [acesso em 28 out. 2025]. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023/>
- Armstrong DG, Baxter G, Gutierrez CG, Hogg CO, Glazyrin AL, Campbell BK, Bramley TA, Webb R. Insulin-like growth factor binding protein -2 and -4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and developmental status. *Endocrinology*, v.139, p.2146-2154, 1998.
- Andrade LP, Rhind SM, Wright IA, McMillen SR, Goddard PJ, Bramley TA. Effects of bovine somatotropin (bST) on ovarian function in post-partum beef cows. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.8, p.951-960, 1996.
- Baruselli PS, Catussi BLC, Abreu L, Elliff FM, Silva LG, Batista EOS. Challenges to increase the AI and ET markets in Brazil. *Anim Reprod*. 2019; v.16, n.3, p.364-75, 2019.
- Bera S, Sharma R, Loat S, Damor S, Kaith S, Rajendar M, Shah V, Das SK. From lab to livestock: Harnessing hormones to revolutionize *in vitro* embryo development. *Int. J. Adv. Biochem. Res.*, v.9, n.4, p.184-190, 2025.
- Bezerra GA. *Somatotropina Bovina Recombinante sobre a produção de embriões bovinos in vitro*. 2009. 47p. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2009.
- Bols PEJ, Leroy JLMR, Vanholder T, Soom AV. A comparison of a mechanical sector and a linear array transducer for ultrasound-guided transvaginal oocyte retrieval (OPU) in the cow. *Theriogenology*, v.62, p.906-914, 2004.
- Borges AM, Torres CAA, Ruas JRM, Rocha Júnior RR, Carvalho GR. Resposta superovulatória de novilhas mestiças holandês-Zebu tratadas com Somatotropina bovina recombinante (rBST). *R. Bras. Zootec*, v.30, n.5, p.1439-1444, 2001.
- Carvalho JO, Ferreira LB, Souza RF. Eficiência e limitações na produção *in vitro* de embriões bovinos. *Rev. Reprod. Anim.*, v.15, p.45-51, 2018.
- Coelho EM. *Alguns aspectos da transferência de embriões em bovinos*. 1986. 83p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1986.
- Cushman RA, DeSouza JC, Hedgpeth VS, Britt JH. 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.
- Da Silva Haas GT, Carvalho CAF, Costa EP, Alves CAT, Fernandes PAM, Guiselli FL, Rêgo TAP. Taxa de prenhez e concentração sérica de progesterona em novilhas receptoras de embrião tratadas com somatotropina recombinante bovina (rbst). *Revis. Ceres*, v.54, n.311, p.26-32, 2007.
- Foxcroft G, Almeida F, Aherne F. Management of the gilt and first parity sow. In: VII Simpósio Internacional de Reprodução Animal e Inseminação Artificial em Suínos, Foz do Iguaçu, *Anais...*, ABRAVES, 2000. p.131-145.
- Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on hypophyseal and ovarian functions of lactating dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.*, v.71, p.343-353, 1991.
- Gassenferth G, Valle VM, Souza FA, Gomes MGT, Gassenferth Júnior A, Rosa GVA, Bragato A, Nogueira E, Kozicki LE. Comparison between recombinant bovine somatotropin and equine chorionic gonadotropin in timed artificial insemination protocols in *Bos indicus* cows under low body condition score. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.77, n.2, e13256, 2025.
- Grázia JGV, Santos GM. Evaluation of the embryo development stage on the pregnancy rate in recipients of *in vitro* produced bovine embryos. *Braz. J. Anim. Environ. Res*, v.4, n.3, p.4776-4782, 2021.
- Hernández-Cerón J, Gutiérrez-Aguilar CG. Recombinant bovine somatotropin and reproduction in cattle, sheep and goats. *Agrociencia*, v.47, n.1, p.35-45, 2013.



- Jimenez-Krassel F, Ireland JJ.** Development and Validation of a Short-Term, Serum-Free Culture System for Bovine Granulosa Cells: Evaluation of the Effects of Somatotropin and Growth Hormone-Releasing Factor on Estradiol Production. *J. Dairy Sci.* v.85, p.68–78, 2002.
- Kaminski AP, Carvalho MLA, Segui MS, Kozicki LE, Pedrosa VB, Weiss RR, Bergstein-Galan TG.** Impact of recombinant bovine somatotropin, progesterone, and estradiol benzoate on ovarian follicular dynamics in *Bos taurus taurus* cows using a protocol for estrus and ovulation synchronization. *Theriogenology*, v.125, p.331-334, 2019.
- Leibfried-Rutledge ML, FIRST NL.** Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, v.48, p.76-86, 1999.
- Lucci CS, Rodrigues PHM, Santos Júnior EJ, Castro AL.** Emprego da somatotrofina bovina (bst) em vacas de alta produção. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.35, p.46-50, 1998.
- Lucy MC.** Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J. Dairy Sci*, v.83, p.1635-1647, 2000.
- Lucy MC.** Use of bovine somatotropin to increase follicular growth in cattle: Applications to superovulation. *Annual Convention of American Embryo Transfer Association*, p.61-70, 1996.
- Maciel KC, Masquio JA, Teixeira MM.** Produção in vitro de embriões bovinos: Revisão de literatura. *Res. Soc. Dev.*, v.14, n.6, e6314649073, 2025.
- Maffili VV, Torres CAA, Soares Filho PM, Silva MR, Fonseca JF, Borges AM, Amorim LS.** Efeitos da somatotropina bovina na resposta superovulatória e na taxa de clivagem de zigotos de camundongos (*Mus musculus*). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.25, n.3, p.377-379, 2001.
- Merton JS, De Roos APW, Mullaart E, De Ruigh L, Kaal L, Vos PLAM, Dieleman SJ.** Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in cattle breeding industry. *Theriogenology*, v.59, p.651-674, 2003.
- Moraes Júnior FJ.** *Efeito da Somatotropina Recombinante Bovina (rbST) na resposta ovulatória e na qualidade dos embriões de vacas da raça Nelore.* 2008. 54p. Dissertação (Mestrado), Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Piauí, Teresina, 2008.
- Moraes Júnior FJ, Schutz LF, Feltrin C, Martins LT, Neto SG, Salviano MB, Tavares KCS, Almeida JL, Rodrigues VH, Machado Junior J, Fernandes CCL, Santos BMB, Calderon CEM, Aguiar LH, Bertolini M, Sousa JAT.** Efeito cumulativo da Somatotropina Recombinante Bovina (rbST) na produção *in vitro* de embriões de fêmeas Guzoldo lactantes. *XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE)*. p.394, 2010.
- Moreira F, Paula-Lopes FF, Hansen PJ, Badinga L, Thatcher WW.** Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of *in vitro* derived bovine embryos. *Theriogenology*, v.57, p.895-907, 2002.
- Neves EF, Ramos AF, Marques Júnior AP.** Pré-tratamento com somatotropina bovina (rbST) na superovulação de doadoras da raça Holandesa. *Arg. Bras. Med. Vet.*, v.57, p.205-209, 2005.
- Oosthuizen N, Fontes PLP, Henry DD, Ciriaco FM, Sanford CD, Canal LB, Moraes GV, DiLorenzo N, Currin JF, Clark S, Whittier WD, Mercadante VRG, Lamb GC.** Administration of recombinant bovine somatotropin prior to fixed-time artificial insemination and the effects on fertility, embryo, and fetal size in beef heifers. *J. Anim. Sci.*, v.96, n.5, p.1894–1902, 2018.
- Pauletti P, Bagaldo AR, Kindlein L, De Paz CCP, Lanna DPD, Neto RM.** IGF-I e IgG Séricos e nas Secreções Lácteas em Vacas Tratadas com rbST no Período Pré-Parto. *R. Bras. Zootec*, v.34, n.3, p.976-986, 2005.
- Pavlok A, Koutecka L, Krejci P, Slavik T, Cerman J, Slaba J, Dorn D.** Effect of recombination somatotropin on follicular growth and quality of oocyte in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.41, p.183–192, 1995.
- Payano IU, Quispe EC, Ancco GE, Arauco VF, Huamán CA.** Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) and propylene glycol (PG) on the quantity and quality of embryos in early lactation Brown Swiss dairy cows. *Rev. Ciênc. Agrovet.*, v.24, n.1, p.76-90, 2025.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruip TAM, Taverne MAM.** Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, v.30, n.4, p.751-762, 1988.
- Ramos A, Ferreira AM, Sá WF, Viana HM, Camargo LSA, Posseni J, Henry M.** Efeito da somatotropina na população folicular, recuperação de óócitos e produção in vitro de embriões em vacas Gir. *R. Bras. Zootec.*, v.36, n.2, p.380-386, 2007.
- Rausch MT, Tripp MW, Govoni KE, Zang W, Webert WJ, Crooker BA, Hoagland TA, Zinn SA.** The influence of level of feeding on growth and serum insulin-like growth factor I and insulin-like growth



- factor-binding proteins in growing beef cattle supplemented with Somatotropin. *J. Anim. Sci.*, v.80, p.94-100, 2002.
- Reichenbach, HD.** Embryo transfer and cryopreservation in cattle: practical considerations. *Acta Sci Vet*, v.31, p.28-50, 2003.
- Ribeiro Filho AL, Rodrigues AS, Lima MCC, Ferraz PA, Loiola MVG, Bittencourt RF.** Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldades no procedimento de inovulação. *Cienc. Anim. Bras.*, v.12, p.727-732, 2011.
- Ribeiro LGM, Bastos BDM, Silva MNP, Oliveira RA, Pinto AFBP, Lima IRA, Melo LHA, Sousa RKC, Gonçalves PR, Bonfa HC, Cordeiro MF, Nogueira DM, Barbosa RS, Lopes Júnior ES.** Efeito da somatotropina bovina recombinante (rbST) na produção *in vivo* e na maturação *in vitro* de oócitos bovinos da raça Sindi. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.72, n.1, p.25-32, 2020.
- Rincón JAA, Mion B, Acosta DAV, Gasperin BG, Rovani MT, Pegoraro LMC, Corrêa MN, Schneider A.** Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) treatment on follicular population and development in non-lactating dairy cows. *Anim Reprod.* v.16, n.4, p.914-922, 2019.
- Rieger D, Walton JS, Goodwin ML, Johnson WH.** The effect of co-treatment with recombinant bovine somatotropin on plasma progesterone concentration and number of embryo collected from superovulated Holstein heifers. *Theriogenology*, v.35, p.863-869, 1991.
- Seneda MM, Esper CR, Garcia JM, Andrade ER, Binelli M, Oliveira JA, Nascimento AB.** Efficacy of linear and convex transducers for ultrasound-guided transvaginal follicle aspiration. *Theriogenology*, v.59, p.1435-1440, 2003.
- Schemm SR, Deaver DR, Griel Jr LC, Muller LD.** Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Reprod Biol*, v.42, p.815-821, 1990.
- Takada L.** Efeito da melatonina sobre a maturação dos oócitos em sistemas tradicionais de produção *in vitro* de embriões. 2008. 85f. Tese (Doutorado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- Thatcher WW, Guzeloglu A, Mattos R.** Uterine conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology*, v.56, p.1435-1450, 2001.
- Trenkel CKG, Pinto Neto A, Cichoski LF, Rosin MR, Cattelan J.** Pregnancy rate after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Res. Soc. Dev.*, v.11, n.11, e166111131002, 2022.
- Tripp MW, Ju JC, Hoagland TA, Riesen JW, Yang X, Zinn SA.** Influence of somatotropin and nutrition on bovine oocyte retrieval and *in vitro* development. *Theriogenology*, v.53, n.8, p.1581-1590, 2000.
- Vega Jr, Gibson CA, Skaar TC, Hadsell DL, Baumrucker CR.** Insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.69, n.6, p.2538-2547, 1991.
- Vieira LM, Pereira MM, Melo DS.** Aplicações da fertilização *in vitro* na pecuária brasileira. *Acta Sci. Anim. Sci.*, v.43, p.1-9, 2021.