

Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR
Campus Rolim de Moura
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MAXSIELE VIEIRA DA SILVA

**TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA E TAXA DE PREENHEZ EM EQUINOS
DA RAÇA QUARTO DE MILHA EM DUAS ESTAÇÕES DE MONTA DE HARAS
NO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA-RO**

Rolim de Moura - RO

2019

Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR
Campus Rolim de Moura
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MAXSIELE VIEIRA DA SILVA

**TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA E TAXA DE PREENHEZ EM EQUINOS
DA RAÇA QUARTO DE MILHA EM DUAS ESTAÇÕES DE MONTA DE HARAS
NO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA-RO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Fundação Universidade Federal de Rondônia *Campus* Rolim de Moura, como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador (a): Profa. Dra Evelyn Rabelo Andrade Oliveira

Rolim de Moura -RO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Fundação Universidade Federal de Rondônia
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

S586t Silva, Maxsiele Vieira.

Taxa de recuperação embrionária e taxa de prenhez em equinos da raça quarto de milha em duas estações de monta de haras no município de Rolim de Moura-RO / Maxsiele Vieira Silva. -- Rolim de Moura, RO, 2019.

60 f. : il.

Orientador(a): Prof.^a Dra. Evelyn Rabelo Andrade Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) -
Fundação Universidade Federal de Rondônia

1.Transferência de Embriões. 2.Éguas. 3.Embrião. 4.Doadoras.
5.Receptoras. I. Oliveira, Evelyn Rabelo Andrade. II. Título.

CDU 619:616.32

MAXSIELE VIEIRA DA SILVA

**TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA E TAXA DE PREENHEZ EM EQUINOS
DA RAÇA QUARTO DE MILHA EM DUAS ESTAÇÕES DE MONTA DE HARAS
NO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA- RO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como exigência em graduação no curso de Bacharel em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Rondônia.

Rolim de Moura, 01 de Julho de 2019

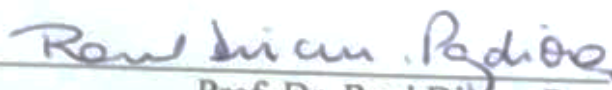
BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Evelyn Rabelo Andrade Oliveira,
Orientadora
Universidade Federal de Rondônia



Prof. Dr. Fernando do Carmo Silva
Universidade Federal de Rondônia



Prof. Dr. Raul Dirceu Pazdiora
Universidade Federal de Rondônia

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força, sabedoria, saúde e determinação que me concedeu nesses cinco anos de faculdade, pois sem Ele nada disso seria possível; em todos os momentos de dificuldades sempre esteve comigo me dando a direção correta a seguir, sou grata pois até aqui me ajudou o Senhor.

Agradeço a minha família pelo incentivo e por ter depositado confiança em mim, especialmente a minha mãe Denise, minha querida vovó Luiza e meu querido vovô Daniel Garcia (*in memoriam*). Aos meus tios e tias que sempre auxiliaram nessa caminhada, especialmente a minha tia Andreia, tia Leia, Tia neguinha e demais, todos foram de suma importância.

Aos meus amigos e colegas de faculdade que proporcionaram um colorido aos dias tensos de provas e trabalhos sempre ajudando e incentivando um ao outro especialmente a Ingrid, Leidiane, Lorryne, Anderson, Fernanda, Mariana, Ivair.

Agradeço também ao meu querido amigo Hebinho por ter me ajudado e realizado a tradução do meu resumo.

Aos meus professores pelos conhecimentos ministrados contribuindo para minha formação, especialmente a minha orientadora Dra Evelyn Rabelo Andrade Oliveira pela orientação nesse trabalho.

Agradeço também ao Prof. Dr. Fabio Morotti da Universidade Estadual de Londrina pelo auxílio na realização e interpretação das análises.

RESUMO

A transferência de embriões (TE) é uma das biotecnologias mais utilizadas na reprodução equina, sendo comercialmente utilizada no Brasil desde a década de 80. Essa biotecnologia possibilita o maior desenvolvimento do setor da equideocultura através do ganho na eficiência reprodutiva e no incremento do melhoramento genético. O sucesso de um programa de TE está intimamente ligado a taxa de recuperação embrionária das doadoras e taxa de prenhez das receptoras e da interação dos fatores que possam afetar esses dados. O objetivo deste trabalho consistiu em descrever a taxa de recuperação embrionária e taxa de prenhez em haras no município de Rolim de Moura-RO em duas estações de monta (2017/18 e 2018/19). Os dados obtidos nesse estudo foram coletados através de registros reprodutivos de éguas doadoras e receptoras, a partir de agendas utilizadas na estação de monta 2017/18 e 2018/19 os dados foram coletados e compilados em uma ficha de acompanhamento individual para cada doadora, podendo assim avaliar as possíveis variáveis que venham a interferir na taxa de recuperação embrionária e taxa de prenhez. A taxa de recuperação embrionária foi de 59,89% e a idade influenciou significativamente ($p < 0,05$), sendo que animais de até 3 anos e os entre 3 a 6 anos obtiveram melhores taxas comparados aqueles acima de 6 anos 72,73%; 66,10% e 51,11% respectivamente. Com a utilização da Inseminação Artificial (IA), a taxa de recuperação embrionária (63,89%) foi significativamente superior quando comparada à monta natural (44,74%, $p < 0,05$). A época reprodutiva afetou significativamente a taxa de prenhez das receptoras que foi superior na estação de monta 2018/19 ($p < 0,05$). No entanto, em ambas as épocas reprodutivas a taxa de prenhez encontrou-se abaixo do recomendado, sendo 29,57% na estação 2017/18 e 47,36% na estação 2018/19. Foi observado que a idade da receptora, o dia da coleta do embrião e o tipo de sêmen utilizado não influenciaram nas taxas de prenhez ($p > 0,05$). Esses resultados permitem concluir que a taxa de recuperação embrionária diminui com o avançar da idade das doadoras, a IA é um recurso eficiente e aumenta a probabilidade de recuperação de embriões, o dia da coleta não influenciou na taxa de recuperação embrionária, e que receptoras que não estejam reprodutivamente saudáveis e não apresentem boas condições de manejo e alimentação irão apresentar baixas taxas de prenhez, independentemente da idade.

Palavras – chave: Transferência de Embriões; Éguas; Embrião; Doadoras; Receptoras.

ABSTRACT

Embryo transfers (ET) is one of the most used biotechnologies in equine reproductions, and has been commercially used in Brazil since the 80s. This biotechnology makes possible the greater development of the equideoculture market through the gain in reproductive efficiency and in the increase of genetic improvement. The success of an ET program is closely linked to the embryo recovery rate of the donors and the pregnancy rate of the recipients and the interaction of factors that may affect this data. The objective of this work was to describe the rate of embryo recovery and pregnancy rate in a farm in the municipality of Rolim de Moura-RO in two breeding seasons (2017/18 and 2018/19). The data obtained in this study were collected through reproductive records of donor and recipient mares, from the schedules used in the 2017/18 and 2018/19 mating season, data were collected and compiled in an individual follow-up form for each donor, thus evaluating the possible variables that may interfere with the rate of embryo recovery and pregnancy rate. Embryo recovery rate was 59,89% and age significantly influenced ($p < 0,05$), and animals aged up to 3 years and those aged 3 to 6 years had better rates compared to those older than 6 years 72,73 %; 66,10% and 51,11%, respectively. With the use of Artificial Insemination, the embryo recovery rate (63,89%) was significantly higher when compared to natural mating (44,74%, $p < 0,05$). The reproductive season significantly affected the pregnancy rate of the recipients, which was higher in the 2018/19 mating season ($p < 0,05$). However, in both reproductive epochs the pregnancy rate was below recommended, being 29,57% in the 2017/18 season and 47,36% in the 2018/19 season. It was observed that the age of the recipient, the day of collection of the embryo and the type of semen used did not influence the pregnancy rates ($p > 0,05$). These results allow us to conclude that the embryo recovery rate decreases with the advancement of donor age, AI is an efficient resource and increases the probability of embryo recovery, D8 is the best day to perform embryo collection and transfer and that recipients who are not reproductively healthy and do not have good management and feeding conditions will present low pregnancy rates, regardless of age.

Key words: Embryo Transfers; Mares; Donos; Embryo; Receivers.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Taxa de recuperação embrionária nas estações reprodutivas 2017/2018 e 2018/2019.....	43
Tabela 2 – Embriões coletados em função da idade da doadora.....	46
Tabela 3 – Taxa de Recuperação embrionária em relação a IA ou Monta Natural.....	46
Tabela 4 – Taxa de prenhez em função da estação reprodutiva.....	47
Tabela 5 – Taxa de prenhez em função da idade da receptora.....	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Taxa de recuperação embrionária em função do dia da coleta.....	45
Gráfico 2 – Taxa de Prenhez em relação ao dia da coleta e o sêmen utilizado.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Trato reprodutivo da égua em sua vista lateral.....	15
Figura 2 – Características morfológicas do ovário equino adulto.....	16
Figura 3 – Influência da duração do dia no eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário- gonadal.....	17
Figura 4 – Lavagem Uterina.....	31
Figura 5 – Colocação correta do cateter de lavagem, vedando a abertura da cérvix, após o balonete ser inflado.....	31
Figura 6 – Éguas doadoras.....	37
Figura 7 – Éguas receptoras sendo separadas para avaliação.....	37
Figura 8 – Folículo ovariano > 35 mm.....	38
Figura 9 – Lavado Uterino.....	40
Figura 10 – Manipulação do embrião.....	41
Figura 11 – Figura Esquemática mostrando o embrião entre as colunas de ar, meio de dentro de uma palheta.....	41
Figura 12 – Vesícula embrionária aos 15 dias.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

CL – Corpo Lúteo

D – Dia

EPE – Extrato de Pituitária Equina

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana

IA – Inseminação Artificial

IETS- Sociedade Internacional de Transferência de Embriões

IM – Intramuscular

LH – Hormônio Luteinizante

mg – Miligrama

ml – mililitro

ng – nanograma

P4 – Progesterona

PBS – Solução Salina Tamponada em Fosfato

PGF2 α – Prostaglandina F2 α

SRD – Sem raça definida

TE – Transferência de Embrião

UFO – Ovócito não Fertilizado

UI – Unidade Internacional

LISTA DE SIMBOLOS

> - maior

< - menor

% - Porcentagem

μg – micrograma

°C – Graus Celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1. Aspectos anatômicos das éguas	15
3.2. Aspectos fisiológicos das éguas.....	16
3.3. Hormônios comumente ligados a reprodução equina.....	18
3.3.1. Prostaglandinas.....	18
3.3.2. Estrógenos	19
3.3.3. Progesterona (P4) ou progestágenos	19
3.3.4. Gonadotrofina Corônica Humana (hCG)	20
3.3.5. Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)	20
3.3.6. Hormônio Folículo Estimulante (FSH)	20
3.3.7. Hormônio Luteinizante (LH).....	20
3.3.8. Ocitocina.....	21
3.4. Conceito e Histórico da Técnica de Transferência de Embriões (TE).....	21
3.5. Contextualização da Transferência de embriões.....	22
3.6. Indicações e benefícios da TE	22
3.7. Seleção e manejo das doadoras.....	23
3.8. Seleção e manejo das receptoras.....	24
3.9. Sincronização e ovulação entre doadoras e receptoras	25
3.10. Número de ovulações	28
3.14. Classificação e Manipulação do embrião.....	32
3.15. Inovulação	33

3.16.	Manejo das receptoras pós inovulação.....	34
3.17.	Diagnóstico de gestação.....	34
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1.	Local de estudo e coleta de dados.....	36
4.2.	Manejo e sanidade das éguas doadoras e receptoras	36
4.3.	Palpação e Ultrassonografia Transretal	38
4.4.	Monta Natural e Inseminação Artificial	38
4.5.	Coleta, Manipulação e Transferência dos Embriões	39
4.6.	Diagnóstico de Gestação.....	42
4.7.	Análise Estatística.....	42
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6.	CONCLUSÃO.....	51
7.	REFERÊNCIAS	52
	APÊNDICES	59

1. INTRODUÇÃO

A equinocultura é um mercado que vem crescendo em grande escala nos últimos anos gerando uma gama de empregos direta e indiretamente, tendo grande relevância na economia brasileira e sendo responsável por movimentar ao ano aproximadamente R\$16 bilhões (MAPA, 2016).

O rebanho nacional de equinos é o quarto maior rebanho do mundo e de acordo com dados do IBGE 2017, no Brasil existem aproximadamente 5.501.872 cabeças, onde destas 883.059 se encontram na região Norte.

Neste âmbito, cresce a busca por biotecnologias da reprodução que sejam capazes de otimizar a produção e contribuir para o melhoramento genético animal. Dentre as biotecnologias existentes, a Transferência de Embriões (TE) é uma realidade em todo o mundo, sendo considerada uma das biotécnicas mais utilizada na reprodução assistida de equinos. A TE consiste na retirada de um embrião do útero de uma égua chamada de doadora e transferência para o útero de outra égua denominada de receptora (SILVA, 2014).

A implantação dessa técnica traz diversas vantagens para a reprodução equina, merece destaque a obtenção de mais de um produto por ano/doadora, o que eleva assim o ganho genético nessa espécie; a obtenção de produtos de éguas idosas, muito jovens, com problemas reprodutivos que inviabilizam levar uma gestação a termo, como aquelas que apresentam quadros de laminite crônica, artrite severa e indocilidade, o que pode colocar em risco a saúde e o bem-estar animal, como do tratador e do potro (GOMES, 2013).

A eficiência de um programa de TE é determinada pela taxa de recuperação embrionária e taxa de prenhez. A taxa de recuperação de embrião depende da idade, status e manejo reprodutivo da doadora, da qualidade do sêmen e dia da coleta do embrião; já a taxa de prenhez é afetada pela receptora, pelo embrião e manejo pós transferência (ALONSO, 2007).

Diante do exposto o presente estudo objetivou descrever a taxa de recuperação embrionária das doadoras e taxa de prenhez em receptoras, através de um levantamento retrospectivo de duas estações de monta 2017/18 e 2018/19 com programa de TE.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Descrever taxa de recuperação embrionária de éguas doadoras e a taxa de prenhez de éguas receptoras inovuladas em duas estações de monta (2017/18 e 2018/19) em um haras no município de Rolim de Moura – RO.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever a taxa de embriões coletados;
- Descrever a taxa de prenhez confirmada dos embriões que foram transferidos para as receptoras;
- Correlacionar as taxas obtidas com a idade, dia da coleta do embrião, sêmen utilizado e estação reprodutiva.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Aspectos anatômicos das éguas

Os órgãos que compõem o sistema reprodutor feminino são os ovários, ovidutos, útero, cérvix uterina, vagina e genitália externa (figura 1) (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Os ovários se localizam suspensos dentro da cavidade abdominal, sendo o ovário esquerdo geralmente localizada mais caudal que o direito e mais próximo ao rim ipsilateral. Possui formato de feijão e seu tamanho pode variar conforme a estação do ano e estágio do ciclo estral sendo 70 a 80mm de comprimento e 40 a 60 mm de largura. O ovário da égua diferentemente de outras espécies é considerado invertido pois possui o córtex no interior do ovário e região medular na periferia. Além disso apresentam outra particularidade onde o epitélio germinativo fica delimitado a uma pequena porção do ovário, região denominada fossa da ovulação, sendo esta a única região em que o folículo é capaz de se romper, o que limita o número de folículos que ovulam (figura 2) (SQUIRES, 2006). O oviduto é dividido em três partes: istmo, ampola e infundíbulo, onde a ampola representa metade do comprimento total que varia de 20 a 30cm. O corpo e os cornos do útero têm geralmente, o formato de Y ou T. O corpo é cilíndrico e está localizado parcialmente na cavidade abdominal e parcialmente na cavidade pélvica. Os cornos uterinos estão situados totalmente dentro da cavidade abdominal. O útero tem de 20 a 25cm quando não gestante. A cérvix uterina se estende do corpo uterino terminando caudalmente como a porção protuberante da cérvix no espaço da vagina anterior. A vulva deve ter uma posição vertical, não pode apresentar desvio e os lábios vulvares devem coaptar-se completamente, impedindo a entrada de ar na vagina (LEY, 2006).

Figura 1 – Trato reprodutivo da égua em sua vista lateral.

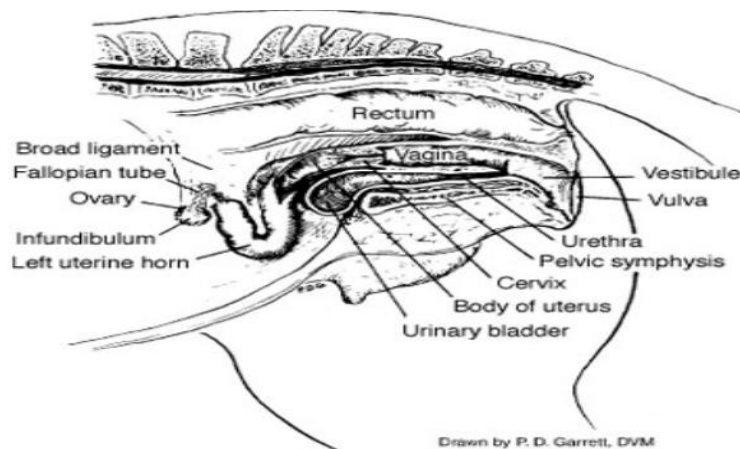
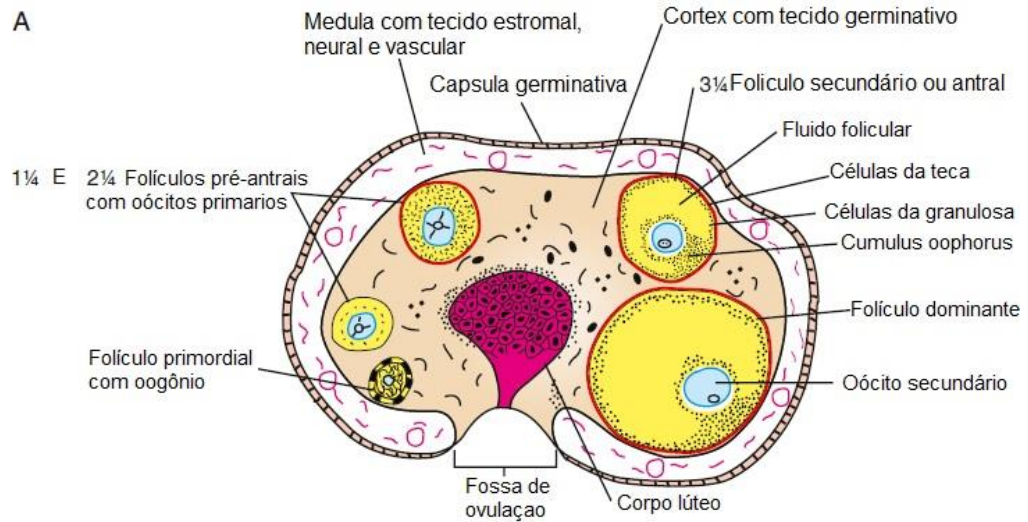


Figura 2. Características morfológicas do ovário equino adulto



Fonte: SAMPER, 2009.

3.2. Aspectos fisiológicos das éguas

As éguas são consideradas poliéstricas sazonais, entretanto em latitudes baixas localizadas próximo a linha do equador, as éguas podem apresentar ciclos estrais durante todo o ano, porém não concebem necessariamente durante todos os períodos estrais (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

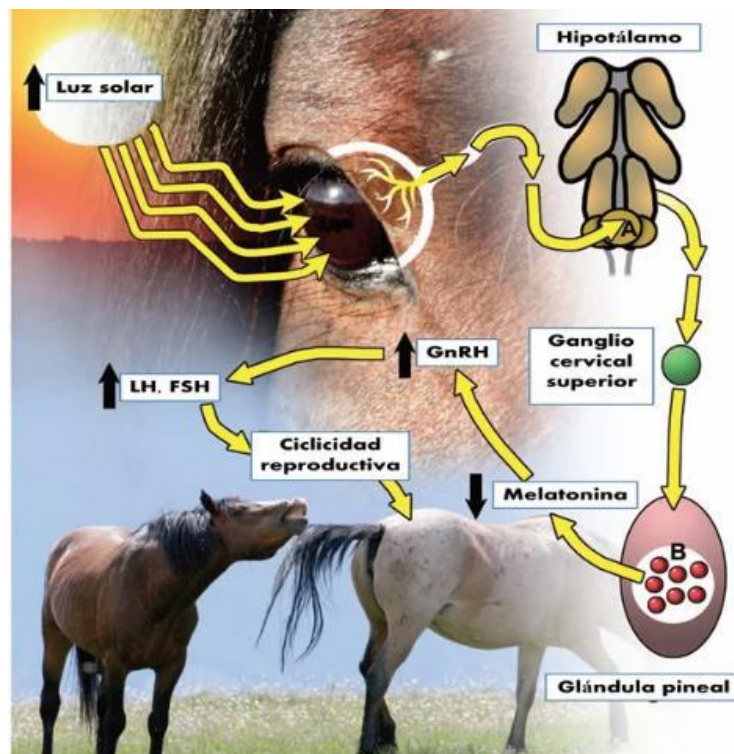
Ao final da primavera e verão ocorre a estação reprodutiva natural (fisiológica) da égua. Ao decorrer do ano a maioria das éguas se encontra em anestro, passando no inverno por um período transicional, para depois se tornar poliéstrica estacional, sendo que no outono passam por um novo período transicional e de volta ao anestro, no inverno (LEY, 2006).

Com a seleção evolutiva que decorreu de milhares de anos, o cérebro das éguas foi programado para reconhecer o comprimento do dia, e ser capaz de iniciar o seu período reprodutivo (estral) apenas quando os dias forem suficientemente longos, ou seja quando a primavera estiver chegando (MARIZ, 2008). A exposição dessas espécies a fotoperíodos curtos, ou seja, dias mais curtos e noites mais longas provoca a inibição do sistema reprodutivo e anestro das fêmeas (ROCHA, 2011). A duração do dia também é determinado pela latitude, éguas que se encontram em regiões mais ao norte ou ao sul da linha do Equador irão iniciar a sua ciclicidade mais tarde que aquelas que estão próximas da linha do equador, sendo esses animais os que sofrem pouca variação estacional, quanto a extensão do ciclo estral (ARISTIZÁBAL, 2017).

Éguas em boas condições corporais e que tem disponibilidade de alimento, criadas em regiões próximas à linha do Equador, tendem a ciclar durante todo o ano sendo consideradas poliéstricas anuais (ARISTIZÁBAL, 2017).

Períodos de 15 a 16 horas de duração do dia sejam naturais ou por estímulo luminoso, atuam sobre o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Figura 3), interrompendo a produção de melatonina (LEY, 2006). Durante o dia os raios solares vão incidir sobre a retina, estimular os receptores e através das fibras simpáticas do nervo óptico e conexões na base do cérebro enviam mensagens para a glândula pineal, desencadeando os eventos cerebrais onde estão envolvidos o hipotálamo, hipófise anterior e os ovários (TOMAZELLA, 2013). A glândula pineal é responsável pela síntese e secreção de melatonina, quando os níveis desse hormônio estão diminuídos, ocorre uma maior liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo, o que resulta em um aumento da produção hipofisária e libera os hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), induzindo o recrutamento, seleção e dominância folicular (LEY, 2006).

Figura 3 – Influência da duração do dia sobre o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal.



Fonte: <https://sites.usp.br/zootjr/ciclo-do-cio-da-egua/>

Segundo Hafez; Hafez (2004), o ciclo estral da égua tem uma duração entre 19 a 25 dias sendo dividido em fase folicular (proestro e estro) e fase luteal (mataestro e diestro). O

proestro é a fase que antecede o estro onde o folículo pré ovulatório secreta quantidades crescentes de estrógeno, essa fase é marcada pelo aumento da vascularização e tônus dos órgãos genitais, edemaciação inicial da vulva, relaxamento da cérvix, termina quando a fêmea passa a aceitar o macho. O estro é o período em que a égua se torna receptiva ao garanhão, o qual tem uma duração que varia de 4 a 8 dias; o nível circulante de estrógeno é o principal determinante dessa fase, a ovulação ocorre em média de 24 a 48 horas antes do final do cio.

O metaestro corresponde a fase pós-ovulatória, onde o Corpo Lúteo (CL) funciona reduzindo assim os níveis de estrógeno e aumentando os níveis de progesterona o qual é produzido pelo CL. O diestro é o período onde a égua rejeita o garanhão, e o trato genital está apto a aceitar e manter uma gestação. A regressão do CL (luteólise) marca o final do diestro, este ocorre de 14 a 15 dias após a ovulação, inicia-se um novo estro em 1 ou 2 dias após a regressão do CL (PAIVA JUNIOR, 2008).

O início da estação reprodutiva em éguas depende também de outros fatores fisiológicos e ambientais tais como idade, condição corporal, raça e nutrição. Todos esses fatores estão interligados com a variação da ocorrência das ovulações no decorrer dos meses e limitam a utilização desses animais durante todo ano no que se refere a reprodução (ARISTIZÁBAL, 2017).

A gestação da égua tem uma duração que varia de 315 a 360 dias e é influenciado por diversos fatores entre eles podem ser citados o tamanho da égua, o genótipo fetal e pela fase da estação de monta do período da concepção. Gestações gemelares em éguas são raras e indesejadas pois podem provocar abortamentos e comprometimento do desenvolvimento pós-natal dos poucos potros gêmeos que sobrevivem (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

3.3. Hormônios comumente ligados a reprodução equina

3.3.1. Prostaglandinas

A grande parte dos tecidos do organismo secreta prostaglandinas, classificadas como ácido graxo insaturado com um anel de ciclopentano. O ácido araquidônico é o precursor das prostaglandinas $PGF2\alpha$ e $PGE2$ (HAFEZ; HAFEZ, 2004). As prostaglandinas estão intimamente ligados a reprodução, sendo liberados no trato reprodutivo em função de estímulos endócrinos, neurais e físicos (MELO, 2006).

A $PGF2\alpha$ e seus análogos são os hormônios comumente utilizados na reprodução equina, com o objetivo de sincronização e indução do estro, administrados preferencialmente por via intramuscular (IM). Para sincronização e indução do estro, recomenda-se a aplicação

de PGF2 α duas vezes em qualquer fase do ciclo estral, com intervalo de 14 dias entre as aplicações, ou uma dose única após a detecção de um CL maduro. No tratamento da endometrite, a PGF2 α atua na acentuação das contrações uterinas o que auxilia no processo de limpeza do útero. Após a aplicação a égua retorna ao estro em dois a cinco dias e a ovulação em sete a doze dias (FARIA; GRADELA, 2010).

3.3.2. Estrógenos

A produção de estrógenos (E2) é realizada principalmente pelos folículos ovarianos e estes pertencem à classe de hormônios esteroides associados aos sinais de estro. As concentrações de estrógeno folicular atingem o pico um ou dois dias antes da ovulação (SILVA, 2014).

Quando a progesterona está em baixa concentração (<1ng/mL) o estrógeno secretado: induz a receptividade sexual e o relaxamento da cérvix e vulva; estimula a produção de secreções do trato genital, permitindo a passagem e o transporte espermático e; auxilia na maturação folicular e ovariana (MELO, 2006).

O estrógeno quando aplicado em pequenas doses (0,5 a 1,0 mg) tem a capacidade de induzir sinais de estro em animais que se encontram em anestro dentro de 3 a 6 horas. Em éguas cíclicas a administração de estrógeno (50 mg, IM) ou cipionato de estradiol (50 mg, IM) no dia seguinte a ovulação tem a capacidade de suprimir o desenvolvimento folicular, sem alterar a função luteal, onde são utilizados em programas de sincronização de estro e ovulação com auxílio da progesterona (FARIA E GRADELA, 2010).

3.3.3. Progesterona (P4) ou progestágenos

A progesterona (P4) é um hormônio esteroide secretado pelo CL, placenta e glândula adrenal. A progesterona é um importante regulador do ciclo estral pois tem como função preparar o endométrio para a implantação e a manutenção da gestação, levando ao aumento das secreções das glândulas endometriais e inibindo a motilidade do endométrio; em níveis elevados inibe a manifestação do estro e a liberação de Hormônio Luteinizante (LH) (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

As principais indicações do uso de progestágenos incluem a inibição do estro, melhora do tônus uterino, manutenção da gestação, sincronização do estro e da ovulação em éguas cíclicas, indução de ciclo artificial e melhoramento do aproveitamento de éguas receptoras de embriões (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

3.3.4. Gonadotrofina Corônica Humana (hCG)

O hCG junto com o Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) são os agentes indutores de ovulação mais utilizados, que contribuem na melhoria da eficiência reprodutiva, pois estes sincronizam o momento da inseminação, que ocorrem em um período de até 48 horas após a indução variando de 12 a 72 horas (MELO, 2006).

3.3.5. Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)

Esse hormônio tem a função de fazer uma conexão entre o sistema nervoso e endócrino. A liberação em pulsos do GnRH pelo sistema porta hipofisário estimula a hipófise anterior a liberar o Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e luteinizante (LH) (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O GnRH é indicado quando se quer estimular o crescimento folicular ou induzir a ovulação, sendo que geralmente éguas tratadas com GnRH irão ovular de 36 a 42 horas após o tratamento. O tempo de ovulação varia de acordo com o fármaco utilizado, em média, 24 a 48 horas para acetato de busarelina e 36 a 48 horas para a deslorelina. A deslorelina diminui o número de coberturas, sendo de grande auxílio para TE e Inseminação Artificial (IA) (FARIA; GRADELA, 2010).

3.3.6. Hormônio Folículo Estimulante (FSH)

O FSH é o hormônio responsável pelo crescimento dos folículos ovarianos e na presença do LH estimula a produção de estrógeno. A secreção de FSH pode ser inibida pelo estrógeno e inibina, hormônio liberado pelos folículos que estão em desenvolvimento (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A secreção de FSH durante a estação de monta acontece em dois picos: o primeiro pico ocorre próximo do final do estro que coincide com o pico de LH próximo ou após a ovulação; o segundo ocorre na metade do diestro e é responsável pelo desenvolvimento de uma nova onda folicular a qual vai originar o folículo ovulatório no próximo estro (MELO, 2006).

3.3.7. Hormônio Luteinizante (LH)

O LH é um hormônio glicoproteico e seus níveis tônicos e basais atuam em conjunto com o FSH na secreção de estrógeno pelo ovário. O limiar pré-ovulatório é o responsável pela ruptura da parede do folículo que leva a ovulação (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

De 6 a 15 dias após a ovulação devido ao *feedback* negativo da progesterona no hipotálamo, que leva a supressão do GnRH, as concentrações de LH são baixas, e só voltam a aumentar próximo do início do estro (dia 17 do ciclo estral), quando a progesterona já não tem efeito provavelmente pelo *feedback* positivo do estrógeno na frequência dos pulsos de GnRH. O pico de LH acontece dois dias após a ovulação declinando lentamente e atinge suas concentrações basais de 5 a 6 dias após a ovulação (MELO, 2006).

3.3.8. Ocitocina

A ocitocina é o hormônio responsável pela contração da musculatura lisa do útero, oviduto e células mioepiteliais da glândula mamária. A ocitocina é o estimulante miometrial de eleição no tratamento da endometrite pois auxilia na limpeza uterina; também é utilizada para indução de parto, tratamento de retenção placentária e estimulante para liberação do leite (FARIA; GRADELA, 2010).

3.4. Conceito e Histórico da Técnica de Transferência de Embriões (TE)

A “Transferência de Embriões” consiste na geração do embrião no útero da égua de alto valor zootécnico denominada doadora, de onde o mesmo é retirado antes da sua implantação e colocado no útero da égua receptora, a qual levará uma gestação a termo; a receptora geralmente tem um menor valor zootécnico e não interfere geneticamente no embrião. Para que a técnica seja efetivada com sucesso é necessário sincronizar os cios das éguas, fertilizar a doadora com sêmen de boa qualidade, coletar o embrião do útero da doadora e transferir para o útero da receptora, da qual deverá gestar e amamentar a cria (GONÇALVES; FIGUEIREDO; FREITAS, 2016).

Foi nos anos 70 que começou a se registrar as primeiras transferências de embriões bem-sucedidas em equinos. Em Cambridge, na Inglaterra, Allen e Rowson (1972) realizaram a primeira transferência entre burros e cavalos, onde os embriões eram coletados e transferidos utilizando-se a técnica cirúrgica. Em 1974 ocorreu um marco onde se obteve o nascimento de um pônei após transferência de embrião fruto do trabalho dos pesquisadores Oguri e Tsutsumi (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A TE em equinos no Brasil teve seu início na década de 80 e foi implantada principalmente pelo Médico Veterinário João Junqueira Fleury, pelo método cirúrgico, e Cezinan de Meira e Marc Henry, pelo método não-cirúrgico (MONTECHIESI, 2015).

3.5. Contextualização da Transferência de embriões

Segundo Informações da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS), no ano de 2013 o Brasil relatou 19.680 embriões equinos coletados, onde é considerado o líder mundial nessa área (PERRY, 2014).

Atualmente a técnica em equinos é realizada de maneira não cirúrgica, é um procedimento relativamente simples; quando realizado de maneira correta são atingidas ótimas taxas de recuperação embrionária e de prenhez (MONTECHIESI, 2015). O Brasil responde por cerca de 50% dos embriões transferidos no mundo, liderando esse mercado onde produz aproximadamente 25.000 embriões transferidos por ano (ALVARENGA, 2017).

Como a TE é uma técnica cara, a sua aplicação geralmente é restrita a éguas com um alto valor zootécnico, que possuam características consideradas altamente herdáveis (SAMPER, 2009). No Brasil a principais raças envolvidas no programa de TE são Manga Larga Marchador, Campolina, Quarto de Milha e Manga Larga Paulista (ALVARENGA, 2017).

Todo planejamento de reprodução equina deve ser pensado como um negócio, mesmo que o objetivo principal não seja o financeiro. Espera-se, como em todo sistema de produção que os resultados na TE sejam sempre positivos e os resultados negativos caso aconteçam, sejam insignificantes. Para isso a TE deve ser administrada seguindo preceitos econômicos, tais como planejamento, projeto, estratégia e organização (LOPES, 2015).

Existem alguns entraves no programa de transferência de embriões, dentre os principais podemos citar a idade, condição corporal, manejo da doadora, a qualidade da égua receptora, a sincronização entre doadora e receptora e a habilidade do técnico (GOMES, 2013).

3.6. Indicações e benefícios da TE

A TE traz diversas vantagens dentre elas podemos destacar:

- Obtenção de múltiplos potros por ano;
- Obtenção de potros de éguas problemáticas e éguas mais velhas;
- Aumento da descendência de éguas com alto valor genético;
- Obtenção de produtos de éguas que se encontram em competições esportivas, sem a necessidade de parar as atividades em razão de gestação e/ou lactação;
- Pode ser utilizada como forma de antecipar a reprodução, sendo possível coletar embriões de éguas com apenas dois anos de idade sem alterar o desenvolvimento do animal;

- Além disso a TE favorece o maior controle de doenças quando da transferência de material genético entre estados e países (GONÇALVES; FIGUEIREDO; FREITAS, 2008; CARVALHO, 2012).

3.7. Seleção e manejo das doadoras

Na seleção da égua doadora vários fatores devem ser levados em consideração, o histórico reprodutivo da égua, a idade, conformação da vulva, a fertilidade, as diretrizes do registro da raça, custo do procedimento, valor genético, o número de gestações desejadas (SQUIRES, 2003).

Se não houver um histórico reprodutivo da égua é importante que se realize um exame reprodutivo completo do animal, o ideal é a avaliação de um ou dois ciclos estrais de cada doadora antes da sua utilização em um programa de transferência (RIERA, 2009; SILVA, 2014).

Sabe-se que as éguas doadoras são um dos pontos chaves num programa de TE. Éguas jovens e reprodutivamente saudáveis são as mais utilizadas em decorrência da constatação de que um dos entraves para o sucesso da taxa de recuperação embrionária é a elevada percentagem de éguas idosas e de éguas subférteis (CARVALHO, 2012). Éguas com idade próxima de dois anos, particularmente no final da primavera, são consideradas boas doadoras de embriões desde que o tamanho corporal seja semelhante à de éguas maduras (SAMPER, 2009).

Um estudo realizado por Montechiesi (2015), relatou que a média de recuperação embrionária em éguas jovens (2 a 4 anos) foi de 85%; em éguas adultas (4 a 18 anos) de 64,4% e em éguas velhas de 24,1%. As éguas com menos de 12 anos produziram 10% a mais embriões do que éguas com mais de 18 anos. A produção de menor quantidade de embriões em éguas mais velhas tem como prováveis causas, patologias uterinas e tubáricas assim como perda embrionária precoce (LOPES, 2013).

As éguas mais velhas podem constituir grande parte do plantel de doadoras em um programa de TE, pois esses animais já apresentam progênie comprovada e/ ou obteve bons resultados na carreira esportiva. Entretanto é importante que as éguas idosas tenham um cuidado maior em relação a nutrição, bem-estar, evitando estresse ambiental e social e permanecer em piquetes que evitem maiores deslocamentos até a central (EVANGELISTA, 2012).

Além da idade, existem evidências que a atividade física prolongada é prejudicial tanto para recuperação embrionária como a qualidade do embrião (MORTENSEN et al., 2009). De acordo com Smith et al. (2012), o exercício foi prejudicial para a taxa de recuperação

embrionária, indicando que o exercício induz maiores concentrações séricas de cortisol e as taxas de recuperação embrionária foram reduzidas nas éguas exercitadas (20/46, 43%) em comparação as éguas controle (14/21, 67%).

O manejo reprodutivo das doadoras consiste em monitorar o comportamento reprodutivo, através da palpação transretal e da ultrassonografia com objetivo de acompanhar a atividade folicular e o momento certo do uso de hormônios afim de sincronizar o estro e ovulação. A partir do segundo ou terceiro dia de estro, a palpação na doadora deve ser realizada diariamente com o intuito de monitorar o crescimento folicular até o momento da ovulação, possibilitando definir o melhor momento para inseminação ou monta natural (SILVA, 2014).

3.8. Seleção e manejo das receptoras

As éguas receptoras ocupam uma posição fundamental dentro do plantel comercial de TE, pois ela será responsável pela manutenção das condições ideais para o desenvolvimento do feto e pelo cuidado com o neonato até a desmana, o objetivo é sempre um potro bem desenvolvido e saudável (LOPES, 2015). Alguns fatores são importantes na escolha desses animais, merecendo destaque: escore corporal, idade ideal de 3 a 10 anos, o tipo e o tamanho da receptora devem ser semelhantes ao da doadora, condição uterina, habilidade materna, úbere, docilidade, sanidade e o manejo nutricional, pois éguas que não se alimentam adequadamente tem dificuldade em ciclar (SOUZA, 2013).

As éguas receptoras devem ser escolhidas em um período anterior a estação reprodutiva, não devem ser admitidas receptoras novas após o início dos trabalhos, pelo risco de introdução de doenças contagiosas dificuldade de adaptação ao local e ao manejo da propriedade (LOPES, 2015). Ademais, todos os animais devem adquirir uma identificação permanente a fim de evitar confusões sobre qual égua está prenhe de qual embrião (EVANGELISTA, 2012).

As receptoras não devem apresentar alterações musculares, ter boa visão e saúde dentaria, um úbere de qualidade e bom comportamento. Entretanto isso muitas das vezes não é a realidade, sendo difícil obter no mercado boas receptoras com um valor acessível (EVANGELISTA, 2012). O aumento pelo interesse da TE no mercado equestre levou a uma redução da oferta de receptoras e conseqüentemente a um aumento do preço desses animais (ALVARENGA, 2010).

Para que a receptora expresse o máximo do seu potencial reprodutivo devemos assegurar a saúde física e mental do animal onde estes devem ter uma alimentação com volumoso de qualidade, suplementação com minerais e vitaminas, controle de parasitas,

monitoramento das doenças infecto contagiosas e de seus sintomas, cuidados com a salubridade do ambiente e bons tratos (LOPES, 2015).

A idade da receptora influencia no seu estado reprodutivo, quanto mais velhas são consideradas menos produtivas, já que poderão estar no programa de TE por um número menor de estações reprodutivas. Portanto, indica-se a utilização de éguas jovens e de meia idade (SILVA, 2014). A idade avançada é um fator predisponente para a degeneração do endométrio, o que pode comprometer a permanência da gestação (SILVA, 2014). Já Losinno e Alvarenga (2006) discordam dessa afirmação, pois relatam que éguas jovens de 2 a 4 anos, não apresentam ciclos estrais normais sendo este fato mais frequentes que nas adultas, e são também mais agitadas, dificultando o trabalho do técnico.

Um estudo utilizando dois grupos de receptoras, na qual o primeiro grupo continha éguas entre 2 a 9 anos e o segundo entre 10 e 18 anos, concluíram que as éguas mais velhas que apresentavam idade entre 10 e 18 anos tiveram uma maior taxa de perda embrionária (20,5%) em comparação as éguas entre 2 a 9 anos (13,3%). Conforme a idade aumenta a fertilidade das éguas tende a diminuir acentuando-se a partir dos 15 anos (CARNEVALE et al, 2000).

Em relação ao manejo, as receptoras em estro devem ser examinadas diariamente para o acompanhamento do crescimento folicular e o momento da ovulação. É recomendado ter pelo menos duas receptoras disponíveis para cada doadora, permitindo escolher as que apresentam melhores condições reprodutivas no momento da inovulação. Pela ultrassonografia transretal são classificadas como aceitáveis, quando CL se apresenta bem definido, tônus uterino e cervical que varia de bom a excelente e sem alteração uterina ou; marginalmente aceitáveis, quando a imagem do CL é pobre ou se tem pouca tonicidade uterina e cervical (LIRA, 2009).

Éguas receptoras com sucessivas perdas embrionárias precoces e/ou que não conseguem levar uma gestação a termo são consideradas “éguas problema”, sendo designado essa nomenclatura para éguas com histórico conhecido de afecções reprodutivas, como a endometrite sendo recomendado a retirada do programa de TE por não se tornarem gestantes (SOARES, 2017).

3.9. Sincronização e ovulação entre doadoras e receptoras

Uma das atividades mais demoradas em um programa de TE é relacionado ao exame de doadoras e receptoras para determinar as datas de ovulação e grau de sincronia entre as mesmas. Estes exames são realizados rotineiramente onde utiliza-se a palpação transretal e

a ultrassonografia das estruturas ovarianas (SAMPER, 2009) e constitui uma das atividades que consomem mais tempo dentro do processo de TE (EVANGELISTA, 2012).

Nas éguas a sincronização do estro e da ovulação comparada a outras fêmeas de animais domésticos apresenta maior complexibilidade devido a longa fase folicular que essas espécies possuem e pela dificuldade que se tem de adequar o crescimento folicular. A sincronização do estro e da ovulação permite o controle do momento em que as éguas irão ser cobertas ou inseminadas artificialmente em um período pré-estabelecido, com ou sem a detecção do cio. A principal aplicação da sincronização do cio e da ovulação em éguas é na TE, onde as receptoras devem sofrer ovulação um dia antes a dois dias depois da ovulação da doadora (CAMARGO, 2008).

A sincronização de doadoras e receptoras pode ser realizada de diversas formas, ou seja, por ovulação espontânea, induzindo a ovulação e terapia hormonal nas receptoras. Quando se tratar de ovulação espontânea é interessante ter um número maior de receptoras para cada doadora. Quando não é possível a sincronização natural, esta deve ser feita através de diversos tratamentos hormonais disponíveis, sendo sempre recomendado pelo menos duas receptoras para cada doadora (SILVA, 2014). As doadoras que se encontram em estro devem ser examinadas uma vez ao dia assim que o folículo dominante é encontrado afim de determinar quando deve ser realizado a IA ou a Monta Natural, assim também como o dia da ovulação, designado Dia 0 (D0) (RIERA, 2009).

A sincronia entre o embrião e o ambiente uterino é de suma importância para o estabelecimento da gestação, pois um embrião transferido para um útero que não esteja sincronizado está sujeito a variações hormonais e fatores de crescimento que não correspondem a fase a qual ele se encontra. Uma assincronia pode impedir que o embrião possa “transmitir” sinais para o reconhecimento materno, não suprimindo a resposta luteolítica cíclica da égua (NETO, 2017).

O estro e a ovulação podem ser sincronizados e os hormônios mais utilizados são progestágenos e estrógenos, prostaglandinas ($PGF_{2\alpha}$) e análogos, gonadotrofina coriônica humana (hCG) e hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e análogos (EVANGELISTA, 2012).

Se um número grande de receptoras estiver disponível, a sincronização pode ser feita com a administração de prostaglandina (PGF_{α}) ou análogo, é utilizado uma dose luteolítica para uma ou duas receptoras de 1 a 2 dias após a aplicação na doadora (RIERA, 2009). Entretanto a resposta desse agente luteolítico depende da presença do CL funcional pois a prostaglandina irá fazer a lise do CL, e promove um novo ciclo através do mecanismo de

feedback relacionado com a queda dos níveis de progesterona. Quando utilizado em uma receptora ovulada a PGF2 α antecipa o próximo ciclo permitindo que a égua possa estar rapidamente disponível para outro embrião (LOPES, 2015).

Um dos protocolos mais utilizados consiste na combinação de progesterona e estrógeno – 17 β , esse tratamento inibe o desenvolvimento folicular mais uniformemente do que a progesterona utilizada isoladamente. O protocolo consiste em realizar Progesterona (150 mg) e estradiol – 17 β (10mg) IM diariamente durante 10 dias, com uma aplicação de PGF2 α no 10^o dia, e uma de hCG (2500 UI) quando o folículo maior que 35mm for detectado. Com esse protocolo aproximadamente 75% dos animais ovulam entre 10 a 12 dias após o termino do tratamento (LIRA, 2009).

Em todos os protocolos de sincronização utilizados, o crescimento folicular é monitorado através da ultrassonografia e utiliza-se hCG, GnRH ou EPE para induzir a ovulação nas éguas receptoras, 48 h após a inseminação da égua doadora. Entretanto sucessivas aplicações de hCG induzem a formação de anticorpos, o que reduz a sua eficiência na resposta ovulatória (NETO, 2017).

Realizada a indução da ovulação, a égua geralmente ovula dentro de 36-48 horas. O intervalo entre a administração e a ovulação é relacionado com a variação individual na responsividade do folículo ao Hormônio Luteinizante (LH) e presença de folículos com diâmetros compatíveis com a indução da ovulação (FARIAS, 2016).

O acetato de deslorelina um agonista sintético do GnRH e 144 vezes mais potente que o GnRH puro, quando administrado em éguas no estro com um folículo maior que 35 mm induz a ovulação em aproximadamente 42 horas. A grande vantagem na utilização desse análogo em relação ao GnRH puro é que este possui um menor peso molecular podendo assim ser administrado várias vezes durante a estação de monta, o que reduz a criação de anticorpos mesmo após várias aplicações (CAMARGO, 2008).

Utiliza-se normalmente uma janela de sincronização entre doadoras e receptoras sendo que esta deve estar entre o quarto e oitavo dia de ovulação, ou seja, levando em consideração o dia da ovulação da doadora (D0), e a coleta de embrião no dia 7, a receptora poderia então ovular um dia antes (+1) até 3 dias depois (-3), onde são consideradas aptas a receber embrião nesse tempo (SQUIRES, 2003; LOSINNO; ALVARENGA, 2006).

Um estudo realizado por Caiado et al. (2007) testou a utilização de Progesterona oleosa (P4) em receptoras entre o D0 (dia da ovulação) e D5, visando a utilização dessas receptoras no D2, obteve-se um resultado satisfatório, onde conclui-se que o tratamento com P4 no D0 ao D5 possibilita antecipar a utilização da receptora para o D2.

3.10. Número de ovulações

Em sua grande maioria as éguas doadoras apresentam ovulações simples. A recuperação de embriões em éguas com ovulações simples é de aproximadamente 50% por ciclo estral e a taxa de prenhez desses embriões após a TE é de 75%. Ou seja, em um ciclo estral, tem-se 35% de chance de se obter uma prenhez por transferência (SQUIRES; MCCUE, 2007).

Se a doadora apresentar mais do que uma ovulação, as chances de recuperação embrionária aumentam, assim também como a chance de recuperar dois embriões é mais alta em éguas com dupla ovulação em ovários diferentes (ovulação bilateral) comparadas a ovulações em um só ovário (MONTECHIESI, 2015). A tentativa de superovular éguas doadoras tem como principal objetivo aumentar as chances de recuperação embrionária por ciclo, e conseqüentemente melhorar a eficiência e diminuir os custos de um programa de TE (EVANGELISTA, 2012).

A indução de múltiplas ovulações na espécie equina não é um procedimento tão eficaz quando comparado a outras espécies domésticas. A anatomia do ovário e a ausência de um produto que induza de forma eficaz múltiplas ovulações são as principais razões para que a superovulação não seja comumente utilizada na reprodução de equinos (LIRA, 2009). Esse entrave faz com que o produto equino tenha um elevado custo, em virtude de todas as despesas serem divididas por um número relativamente pequenos de produtos (LOPES, 2015).

O Extrato de Pituitária Equina (EPE) e o FSH equino purificado e mais recente o FSH recombinante são os indicados para induzir a superovulação na fêmea equina (ALVARENGA, 2017), onde o objetivo é obter mais de um embrião por coleta na dependência da dose utilizada. Em caso de baixas dosagens objetivo é obter pelo menos um embrião por coleta (GOMES; GOMES, 2008).

Entretanto, a utilização de EPE e FSH encontra obstáculos, como a dificuldade na preparação de EPE e sua indisponibilidade comercial, o que impede o seu uso em larga escala (ALVARENGA, 2010).

3.11. Inseminação ou Monta Natural das doadoras

Para se obter bons índices de recuperação embrionária, recomenda-se que a Monta Natural ou Inseminação Artificial com sêmen fresco seja realizada a cada 48 horas, até que a ovulação seja confirmada; para sêmen resfriado a IA deve ser feita a cada 24 horas e é preferível utilizar sêmen com no máximo 24 horas de refrigeração (ZOCA, 2009). O sêmen congelado é

o menos utilizado pois acarreta maiores custos e uma diminuição das taxas de fertilização (COSTA, 2014).

O protocolo padrão da IA consiste em monitorar o folículo pré-ovulatório da égua doadora através da ultrassonografia transretal. A doadora é inseminada quando o folículo parece estar pronto para ovular ou levando em consideração a indução da ovulação pela administração de algum análogo do GnRH ou LH. Após a inseminação o folículo pré ovulatório deve ser monitorado diariamente, para que se possa determinar o dia da ovulação (Dia 0) (HINRICHS, 2018).

Como o garanhão na maioria das vezes é escolhido baseado em suas características morfológicas e de performance atlética, raramente se leva em consideração a fertilidade, ocorrendo queda da taxa de recuperação embrionária devido à má qualidade do sêmen (LOPES, 2004).

A monta natural traz algumas vantagens em relação a IA sendo elas:

- As éguas são geralmente expostas a um número elevado de espermatozoides, o que garante uma quantidade adequada de sêmen no trato reprodutivo;
- As éguas estão em estro, o que assegura que nenhuma égua seja manipulada quando não está em cio ou quando não estão preparadas;
- O sêmen não sofre manipulação, e conseqüentemente, não há possibilidade de que o sêmen de boa qualidade seja comprometido ou exposto a substâncias tóxicas (COSTA, 2014).

Já o sucesso da IA depende em grande parte da habilidade do técnico (SAMPER, 2009) e apresenta diversas vantagens:

- Diminui drasticamente o risco de transmissão de doenças venéreas;
- Elimina riscos de lesões ao garanhão e a égua;
- Uma coleta de sêmen pode ser dividida em várias doses;
- Reprodução a longa distância devido a possibilidade de se enviar o sêmen, permitindo assim a utilização de uma maior variabilidade genética;
- Mercados expandidos nacionais e internacionais;
- Uso de espermatozoides que determinam ambos os sexos (LEY, 2006; COSTA, 2014).

3.12. Coleta de embriões

Os embriões equinos são transportados de forma seletiva da tuba uterina até o útero no 5 ou 6 dia pós- ovulação, quando se encontram no estágio de desenvolvimento de mórula compacta para blastocisto inicial. Quando adentra no lúmen uterino, o embrião aumenta de tamanho conforme ele se desenvolve como blastocisto expandido (LEY, 2006).

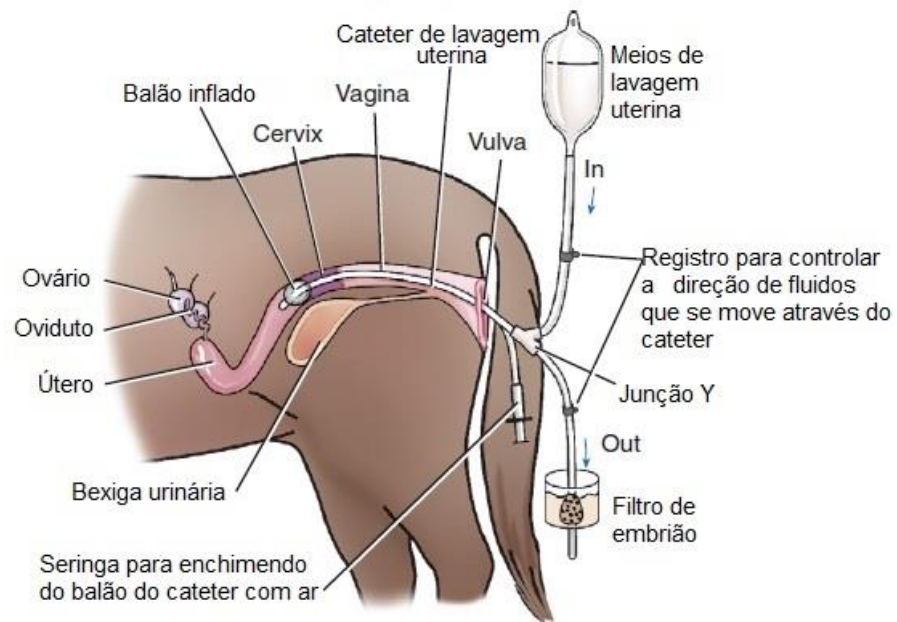
Geralmente a recuperação embrionária é realizada entre os dias 7 (D7) e 8 (D8) após a ovulação (D0). O D8 é considerado ideal para a coleta, entretanto quando se tratar de doadoras que apresentam infecção uterina recomenda-se a coleta no D6 ou D7; já para éguas idosas ou que foram inseminadas com sêmen congelado o D9 é o indicado (MONTECHIESI, 2015).

Existe uma preferência em realizar as coletas de embrião no dia 8, pois nestes estágios os embriões são grandes o suficiente para serem facilmente buscados, o que diminui as chances de não serem encontrados ou de serem perdidos durante o seu manuseio. Já embriões coletados no dia 9 costumam não ser utilizados, pois devido ao seu grande tamanho as taxas de prenhez podem ser mais baixas, provavelmente pelo dano que a manipulação pode provocar (EVANGELISTA, 2012).

Para coletar um embrião utiliza-se o método transcervical não cirúrgico (figura 4), onde a égua é contida em um tronco e tem a região perineal lavada com detergente neutro, enxaguada e secada. O manipulador que irá fazer o procedimento veste uma luva plástica estéril, aplica o lubrificante e introduz um cateter de silicone estéril de 80cm com balão na extremidade com diâmetro interno de 8mm, através da vagina, passando pela cérvix e chegando ao corpo uterino (LEY, 2006). O balonete deve ser inflado com 30-50ml de água, sendo que este deve ser tracionado para trás, selando a abertura da cérvix (figura 5), prevenindo a perda de líquido do lavado (RIERA, 2009). Após a colocação da sonda, é injetado para dentro do útero de um a dois litros de solução Salina Fosfatada Tamponada (PBS), previamente aquecida (30 – 35 °C), contendo 1% de soro Fetal Bovino, penicilina (100 unidades/ml) e estreptomicina (100 µg/ml); ou Ringer Lactato, onde este é a solução de lavado mais utilizada no Brasil (SILVA, 2014). O útero é lavado de três a quatro vezes onde na primeira tentativa utiliza-se um litro da solução e se não houver recuperação embrionária se coloca o segundo litro e o terceiro repetindo-se o procedimento. Realizado o preenchimento do útero, o fluido é drenado pelo cateter e é passado por um filtro de embrião de 0,75 a 0,80µ presente dentro do copo coletor, onde o embrião fica retido. Antes do final do procedimento, o útero é massageado através do reto para auxiliar a suspensão de embriões no meio e aumentar a recuperação desse líquido (LEY, 2006).

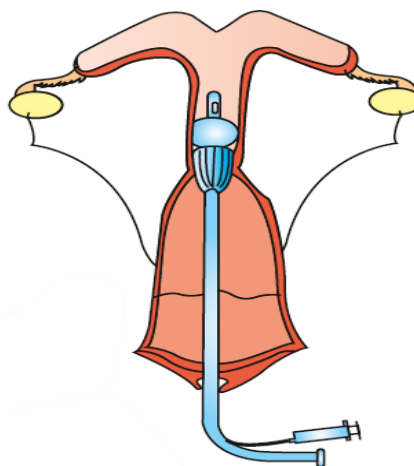
Terminado a lavagem uterina, o filtro deve ser esvaziado em uma Placa de Petri estéril e o fluido examinado em busca da presença de embriões utilizando-se microscópio ou uma lupa. Assim que o embrião é encontrado, ele é classificado, lavado e transferido para a receptora (TESK, 2017).

Figura 4 – Lavagem Uterina



Fonte: STEVEN et al. 2011.

Figura 5 – Colocação correta do cateter de lavagem, vedando a abertura da cérvix, após o balonete ser inflado.



Fonte: SAMPER, 2009.

3.13. Taxa de recuperação de embrião

A taxa de recuperação embrionária é o percentual de embriões coletados por lavado uterino. Como a maioria dos embriões provem de ovulações simples espontâneas, resulta em uma taxa de 50% de embrião por tentativa (GOMES; GOMES, 2008).

O dia da coleta, características da própria doadora, a realização de um manejo reprodutivo adequado, o conhecimento e a experiência do técnico envolvido na realização do procedimento são fatores importantes que influenciam fortemente a taxa de recuperação de embriões (MCCUE, 2011; EVANGELISTA, 2012).

As taxas de recuperação embrionária normais calculadas com base em ovulações simples são de aproximadamente 70% (65 – 75%); se a taxa for abaixo desse valor, a causa deve ser investigada. Alguns fatores que afetam a taxa de recuperação embrionária são:

- Fatores relacionados ao manejo geral, como alimentação e condições sanitárias;
- Fatores relacionados ao manejo reprodutivo de doadoras;
- Fatores relacionados à técnica do lavado, como preencher o útero com fluido a uma capacidade acima do que o suportado pela doadora, se o balão não está inflado demais o que dificulta a recuperação do embrião (SAMPER, 2009; RIERA, 2009; EVANGELISTA, 2012).

O garanhão desempenha um papel importante na TE, tendo uma grande influência em relação a recuperação embrionária, pois a qualidade e fertilidade do sêmen varia entre os animais. O recomendado é que se utilize garanhões que tenham a sua fertilidade comprovada (ZOCA, 2009).

3.14. Classificação e Manipulação do embrião

A avaliação do embrionária é um processo relativamente simples, sendo subjetiva e não requer equipamentos sofisticados. O rastreamento dos embriões é realizado através de um microscópio estereoscópio (lupa) sob o aumento de 10x; para a classificação embrionária utiliza-se um aumento de 40x (LIRA, 2009).

A classificação é feita de acordo com os parâmetros de estágio de desenvolvimento e qualidade seguindo as recomendações da IETS (International Embryo Transfer Society). A avaliação da morfologia quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade da zona pelúcida são alguns dos parâmetros para avaliar e classificar um embrião (LIRA, 2009).

As melhores taxas de prenhez são observadas em embriões no estágio de blastocisto inicial, e blastocisto expandido de grau 1 e grau 2 (TESK, 2017).

O embrião deve ser classificado a partir de um sistema de graduação de 4 pontos (McCUE, 2011):

Grau 1: Excelente, sem anomalias visíveis; formato esférico; células de tamanho, cor e textura uniformes; tamanho e estágio de desenvolvimento adequados para a idade pós ovulação.

Grau 2: Bom, Imperfeições mínimas, como alguns blastômeros extrusados; pequenas irregularidades de formato, tamanho, cor ou textura; pouca separação entre a camada trofoblástica e a zona pelúcida ou cápsula.

Grau 3: Ruim, Nível moderado de imperfeições, como grande percentual de blastômeros extrusados ou degenerados; colapso parcial do blastocele ou afastamento moderado do trofoblasto da zona pelúcida ou cápsula.

Grau 4: Degenerado ou morto, Problemas graves de fácil identificação, como alto percentual de blastômeros extrusados, colapso total do blastocele, ruptura da zona pelúcida ou degeneração completa e morte do embrião.

E ainda pode ser classificado em UFO: Ovócito não fertilizado.

Após a classificação, o embrião é lavado em meio de *holding*, que consiste em um meio de lavagem com formulação enriquecida (EVANGELISTA, 2012). O objetivo desse procedimento é eliminar impurezas presente na zona pelúcida (LIRA, 2009). Após a lavagem passa-se para uma placa de Petri contendo o mesmo meio de *holding*. Os embriões podem ser manipulados com palhetas de sêmen congelado de 0,25 ou 0,5 ml acopladas a uma seringa (EVANGELISTA, 2012).

3.15. Inovulação

Realizada a recuperação embrionária, o embrião pode ser rapidamente transferido ou quando for o caso pode ser resfriado e transportado para uma transferência posterior; o método pode ser realizado de forma cirúrgica ou transcervical (SILVA, 2014). Na abordagem cirúrgica, pode ser realizada sob anestesia geral na linha média, ou sob sedação leve e anestesia local, pelo flanco, em pé. Através dessa abordagem podem ser alcançados índices de gestação de 75 a 80% (LEY, 2006). Entretanto essa técnica é altamente invasiva, requer mais tempo para ser realizada, necessita de instalação e recursos para sua realização, o que a torna mais onerosa, é mais trabalhosa e demanda cuidados pós- cirúrgicos nas receptoras (RIERA, 2009).

A transferência não cirúrgica (transcervical) é fácil e apresenta índices de 60 a 70% de prenhez. Essa técnica tem sido a mais utilizada para receptoras sincronizadas. Os embriões são acondicionados em palhetas de 0,25 ou 0,5 ml ou então em pipetas de inseminação artificial, sendo inseridos no corpo do útero com o auxílio do inovulador para a transferência (SILVA, 2014). Com uma luva estéril, o operador deve adentrar a vagina com os instrumentos conduzindo-os para a cérvix e o embrião deve ser depositado no corpo uterino ou em algum dos cornos do útero, sendo guiado através da palpação transretal. Após a transferência é recomendado sempre verificar a palheta ou a pipeta para observar se o embrião não ficou aprisionado na ponta do instrumento (EVANGELISTA, 2012).

A utilização da receptora segue uma janela que vai do D3 ao D8 após a ovulação; a fêmea deve apresentar bom tônus uterino na avaliação ginecológica (GOMES, 2013). A avaliação da receptora no dia da TE é de suma importância, devem ser palpadas ou examinadas com o auxílio de um ultrassom. A égua escolhida na palpação retal deve apresentar cérvix firme e fechada, e um útero arredondado e tubular. Na ultrassonografia, as dobras endometriais ou fluidos uterinos devem estar ausentes, um corpo lúteo (CL) bem formado o que indica uma circulação aceitável de progesterona (GOMES, 2013).

3.16. Manejo das receptoras pós inovulação

As receptoras devem ter uma boa qualidade de vida para evitar falhas e prejuízo na TE (LOPES, 2013). As receptoras que recebem um embrião devem permanecer tranquilas até a data do primeiro controle pós transferência (LOSINNO; ALVARENGA 2006) e ter acesso a boas pastagens com baixa lotação nos piquetes e água de qualidade (MONTECHIESI, 2015); devem ser preferencialmente mantidas em locais sombreados, visto que geralmente coincide com o verão, e altas temperaturas podem interferir na manutenção da gestação (LOSINNO; ALVARENGA 2006). As receptoras prenhez devem receber pastagens com alto valor nutricional, pois as taxas de prenhez podem ser afetadas se elas estiverem emagrecendo. As receptoras devem ser atentamente monitoradas com a aproximação do parto, sendo importante tratar cada receptora como um indivíduo, ao contrário da mentalidade de rebanho (EVANGELISTA, 2012).

3.17. Diagnóstico de gestação.

Para a confirmação da gestação o padrão mais utilizado é ultrassonografia transretal, sendo o 13° e o 15° dia pós ovulação o período comumente utilizado para o primeiro

diagnóstico de gestação. Dos 13° ao 19° dia, a vesícula embrionária parece uma estrutura anecóica (preta) dentro do lúmen do corpo uterino. A vesícula embrionária do 18° ao 21° dia perde parte de seu tônus e formato, apresentando-se triangular. O embrião propriamente dito pode ser visualizado nos 20° e 21° dias com os batimentos em tempo real. Por volta do 24° dia o embrião tem uma ascendência de sua posição ventral, devido ao desenvolvimento do alantoide. Do 28° ao 30° dia o embrião pode ser visualizado no centro da vesícula e volta ao topo por volta do 35° dia. Entre o 45° e 48° dia o embrião fica suspenso pelo cordão umbilical, descendo então para o espaço ventral do compartimento alantoico (LEY, 2006).

Para descoberta de perdas embrionárias precoces o exame ultrassonográfico a cada 10 dias ou duas semanas do início da gestação deve ser realizado (LIRA, 2009). Alguns fatores contribuem para a morte embrionária precoce, onde depende de fatores intrínsecos e extrínsecos. Os intrínsecos estão relacionados às doenças do endométrio, função lútea insuficiente, idade da égua, cio do potro, lactação, tempo de ovulação, local de fixação da vesícula embrionária e as anomalias cromossômicas maternas. Como fatores extrínsecos podem ser citados o estresse, a nutrição, o clima, a palpação transretal e a morfologia do embrião (CARVALHO, 2012). De acordo com Riera (2009), as taxas de prenhez são maiores durante o período da primavera, pelo simples fato de que as melhores receptoras são utilizadas no início da temporada e a alimentação nesse período é melhor

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal (CEUA) da Universidade Federal de Rondônia sob o protocolo n°017/2019.

4.1. Local de estudo e coleta de dados

Os dados utilizados nesse estudo foram obtidos retrospectivamente de registros reprodutivos de éguas doadoras e receptoras de um haras no município de Rolim de Moura – RO. Os dados compilados são provenientes de duas estações de monta 2017/2018 e 2018/2019 coordenadas pelo médico veterinário da propriedade; a estação de monta de 2017/2018 teve início em Julho de 2017 e término em Abril de 2018, já a estação de monta 2018/2019 teve início em Setembro de 2018 e término em Abril de 2019.

Na estação de monta 2017/18 foram avaliadas 18 doadoras e na de 2018/19, 13 doadoras; em ambas estações foram avaliadas 52 receptoras, algumas se repetiram entre as estações e outras não.

O haras disponibilizou a agenda utilizada nas estações de monta 2017/2018 e 2018/2019, ela continha todas as informações reprodutivas referentes a doadoras e receptoras. Esses dados foram compilados em uma ficha de acompanhamento individual de cada doadora contendo os dados de identificação do animal, nome, idade, raça, pelagem, tipo de criação e dados referentes a T.E como data da inseminação ou cobrição da doadora, data da ovulação, data do lavado uterino, se houve recuperação embrionária ou não; em caso positivo foi registrado o nome da receptora, a data de inovulação e o diagnóstico de gestação aos 13 e aos 60 dias (apêndice 1).

4.2. Manejo e sanidade das éguas doadoras e receptoras

As doadoras de embriões em preparação para competições permaneciam em baias individuais. Já aquelas utilizadas para o trabalho e que não estavam em atividade esportiva permaneciam em piquetes gramado (capim tifton) (figura 6). Os animais tinham acesso à água e sal mineral *ad libidum*. Para as doadoras que ficavam nas baias era fornecido ração duas vezes ao dia, pela manhã, das 7:00 às 7:30, e a tarde, das 14:00 às 14:30, o que totaliza 4kg de ração ao dia. A fonte de volumoso oferecida era capim triturado ou feno produzido no próprio haras (tifton e tangola), fornecidos duas vezes ao dia das 9:00 às 9:30 e das 16:00 às 16:30. As doadoras eram examinadas periodicamente, a fim de verificar a atividade folicular, o melhor

momento para a IA ou monta natural e determinar o dia da ovulação. As baias das doadoras eram limpas diariamente e a dos garanhões limpas duas vezes na semana.

Figura 6 – Éguas Doadoras.



Fonte: Arquivo pessoal.

As receptoras de embriões eram mantidas a pastejo em *Brachiaria Humidicula*, recebiam sal mineral no cocho e tinham acesso à água *ad libitum*. As receptoras eram examinadas periodicamente, onde dependia dos requisitos de sincronização a fim de determinar a atividade folicular e dia da ovulação (figura 7).

Figura 7 – Éguas receptoras sendo separadas para avaliação



Fonte: Arquivo pessoal.

O sistema de vermifugação dos animais, aplicado na propriedade, é de quatro em quatro meses. As doadoras são vacinadas anualmente com a vacina Lexington-8 (encefalomielite, rinopneumonite, influenza e tétano).

4.3. Palpação e Ultrassonografia Transretal

Para a realização da palpação e ultrassonografia transretal os animais eram levados ao tronco de contenção onde os procedimentos eram realizados. A frequência dependia da fase do ciclo estral em que cada animal se encontrava, normalmente eram feitos em intervalos de dois a três dias; quando o folículo atingia diâmetro maior que 30mm o animal era acompanhado diariamente.

Na palpação eram identificados o tônus uterino e a localização dos ovários. Na ultrassonografia transretal eram registrados presença de edema uterino, diâmetro dos folículos, se o animal havia ovulado e presença de corpo lúteo (CL). O CL era considerado bom quando apresentava ecogeneidade, ou seja, um CL bem definido, ou ruim quando se apresentava trabeculado.

4.4. Monta Natural e Inseminação Artificial

Quando detectado através do exame ultrassonográfico um folículo ≥ 35 mm era administrado acetato de deslorelina (Sincrorrelin®), um análogo do GnRH, para a indução da ovulação (figura 8). As éguas doadoras então eram submetidas a monta natural ou inseminadas a cada 24 horas até que fosse identificada a ovulação.

Figura 8 – Folículo ovariano > 35 mm.



Fonte: Arquivo pessoal.

Na monta natural às éguas tinham as regiões de vulva e períneo higienizadas com água e sabão e secas com papel toalha; eram então levadas ao ar livre para que o garanhão realizasse a cobertura. Já a inseminação era realizada com sêmen fresco, refrigerado ou com sêmen congelado; quando se tratava de sêmen fresco o mesmo era coletado do garanhão no haras com auxílio de uma égua em cio e uma vagina artificial.

A preparação da vagina artificial era feita com o revestimento da mucosa de látex com uma mucosa plástica descartável, copo coletor do ejaculado e um filtro de nylon acoplado ao copo coletor, que separa a fração em gel do sêmen, posteriormente fez-se o preenchimento da vagina artificial com água a 52°C, e a superfície interna foi lubrificada. Após a coleta do sêmen, o copo coletor era retirado separando o filtro que continha o gel, o sêmen então era aspirado com uma seringa, medido e diluído com Max-Sêmen® (leite em pó, açúcares, conservantes e excipientes) na proporção de uma dose de sêmen para uma ou duas doses de diluente. Após a diluição o sêmen era colocado em uma seringa de 60 ml acoplada a uma pipeta de inseminação própria para éguas (Provar®). A égua que iria receber a inseminação era contida no tronco, a cauda enfaixada e eram higienizadas com água e sabão a região de vulva e períneo e secas com papel toalha, sendo então efetuada a IA.

A inseminação com sêmen congelado era realizada até 6 horas após ovulação; as éguas eram preparadas da mesma forma daquelas inseminadas com sêmen fresco ou refrigerados. A IA era efetuada com uma pipeta flexível e o sêmen depositado na ponta do corno uterino que sofreu ovulação.

4.5. Coleta, Manipulação e Transferência dos Embriões

As doadoras utilizadas no programa de transferência de embrião eram éguas da raça Quarto de milha com idades que variavam de 2 a 18 anos, que se encontravam em preparação para provas, ou somente aquelas destinadas a reprodução ou utilizadas para o trabalho.

Após a ovulação (D0) aguardava-se de sete a nove dias (D7 a D9) para realizar a coleta, sendo assim o padrão utilizado para o lavado uterino foi D7, D8, D9.

Para a coleta do embrião o método utilizado era o transcervical não cirúrgico conforme descrito por Oguri e Tsutsumi (1972). As éguas doadoras eram levadas ao troco de contenção, tinham a cauda enfaixada, a região de vulva e períneo higienizadas com água e sabão e secas com papel toalha. Após a higienização era feita a introdução de uma sonda de silicone com balonete estéril; a sonda era direcionada através da vagina passando a cérvix e chegando ao corpo do útero. Com o auxílio de uma seringa de 60ml o balonete era inflado com 30 a 50 ml de ar que variava de acordo com o animal e a sonda era tracionada para trás, o que garante

a oclusão total da cérvix. Um circuito em forma de “Y”, onde em uma das extremidades acoplava-se a solução e na outra um filtro coletor próprio para embrião foi utilizado para realizar a lavagem uterina. O meio utilizado para o lavado uterino era ringer lactato, infundido através da sonda até o preenchimento total do útero e aproximadamente 1 litro era utilizado para cada lavagem. Após injetado, a via da solução era fechada e era aberto a via que dava acesso ao filtro coletor; enquanto o médico veterinário realizava a massagem uterina pela via retal, um auxiliar ficava com o filtro coletor na mão afim de visualizar o embrião e garantir que o filtro coletor não esvaziasse. Sempre que o embrião era visualizado no filtro o restante do fluido era drenado e a coleta encerrada (figura 9).

Figura 9 – Lavado Uterino. Figura A- sonda estéril; Figura B - copo coletor com fluido; Figura C- sonda colocada na égua.



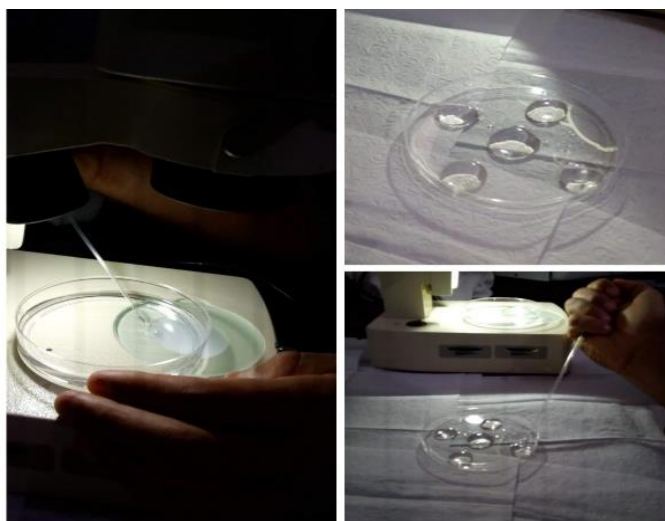
Fonte: Arquivo pessoal

Quando isso não ocorria esse mesmo processo era repetido, até terem sido realizados pelo menos três lavados. Após o termino do lavado o balonete era esvaziado, a sonda retirada da égua e o tubo desacoplado do filtro coletor. Terminado o lavado uterino para a coleta do embrião a égua doadora recebia uma injeção intramuscular de PGF2 α (1ml), objetivando encurtar o período de diestro, o que permite que a égua retorne ao cio; geralmente, depois de cinco dias a égua era examinada para acompanhamento das condições reprodutivas.

Após o termino da coleta, o filtro era esvaziado em uma placa de Petri descartável de 100 x 200 mm com marcações. A placa era conduzida a um microscópio estereoscópio (lupa), sob aumento de 10 vezes, para ser feito o rastreamento do embrião; assim que localizado,

o embrião era transferido para outra placa de Petri contendo meio de manutenção próprio para embriões (Holding Plus Embriolife) a fim de ser feita a lavagem (figura 10).

Figura 10 – Manipulação do embrião.



Fonte: Arquivo pessoal

Após a lavagem, embriões menores eram envasados em palheta francesa de 0,25 ml respeitando a sequência: coluna de meio + coluna de ar + coluna de meio contendo o embrião + coluna de ar + coluna de meio, o que previne movimentações do embrião dentro da palheta (figura 11). Embriões de tamanho grande eram acondicionados e transferidos em pipetas de inseminação artificial. As palhetas ou pipetas era recoberta com uma camisa sanitária e então inovuladas nas receptoras.

Figura 11– Figura esquemática mostrando o embrião entre as colunas de ar, meio de dentro de uma palheta



Fonte: LOPES, 2004.

As receptoras utilizadas no programa de transferência de embriões eram éguas sem raça definida (SRD) com idades que variavam de 2 a 18 anos. Eram utilizadas as que se encontravam do 3º ao 8º dia pós ovulação.

Geralmente haviam duas ou mais receptoras para cada doadora. Realizava-se a ultrassonografia transretal a fim de identificar a mais apta a receber o embrião, era selecionada

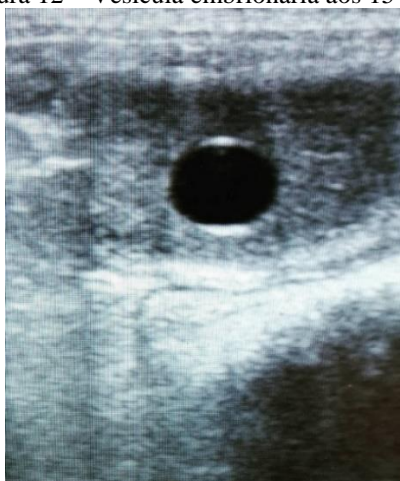
a que apresentava bom CL, bom tônus uterino e cérvix fechada; nem sempre isso era possível, sendo involuadas a receptora mais adequada no momento.

Para a realização da transferência do embrião nas receptoras, elas eram conduzidas ao tronco, as caudas eram enfaixadas e as regiões de períneo e vulva higienizados. Um auxiliar abria os lábios vulvares da receptora e o médico veterinário com as mãos enluvasadas e equipado com os aparatos da transferência direcionava através da vagina, passando a região de cérvix e chegando ao corpo uterino onde o embrião era depositado. Após este procedimento, quando a receptora apresentava um CL mal definido e trabeculado, era aplicado uma dose de P4 (1.500 mg), repetida a cada 7 dias para auxiliar na manutenção da gestação.

4.6. Diagnóstico de Gestação

O diagnóstico de gestação das receptoras era realizado através do exame ultrassonográfico de 13 a 15 dias após a ovulação da doadora. Diagnosticada a prenhez, o exame era repetido aos 60 dias a fim de confirmar a gestação (figura 12). As receptoras prenhez eram mantidas em piquetes separados com pastagens Tifton.

Figura 12 – Vesícula embrionária aos 15 dias.



Fonte: Arquivo pessoal

4.7. Análise Estatística

O efeito das variáveis categóricas sobre a taxa de recuperação embrionária e a taxa de prenhez foram analisados por um modelo de regressão logística, incluindo os efeitos principais da estação de monta, da idade das éguas, do dia de colheita do embrião e do tipo de sêmen. Os animais (doadoras e/ou receptoras) foram inclusos como preditoras contínuas do modelo de regressão. Para efeito significativo considerou-se um valor de $p < 0,05$. Para análise estatística descritiva os dados estão apresentados em percentual (%). Todas as análises foram realizadas no programa estatístico Minitab®, versão 18.1.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo obteve-se nas estações de monta 2017/18 e 2018/19 um total de 182 lavados uterinos e 109 embriões recuperados, tendo como resultado uma taxa de 59,89% de recuperação embrionária. Na estação de monta 2017/18 a taxa foi de 55,47 % e na 2018/19 o resultado foi superior, com 70,37% (Tabela 1).

Tabela 1 – Taxa de recuperação embrionária nas estações reprodutivas 2017/2018 e 2018/2019

Estação Reprodutiva	Recuperação embrionária
2017/18	55,47% (71/128)
2018/19	70,37% (38/54)
Média	59,89% (109/182)

As doadoras nas estações reprodutivas não foram as mesmas, algumas se mantiveram, mas outras não participaram de ambas as estações. Entretanto, os procedimentos para a obtenção dos embriões se mantiveram padronizados, assim como o manejo dos animais não sofreu alteração de uma estação para outra, não interferindo, portanto, nos resultados obtidos.

Não houve efeito da doadora sobre a produção embrionária dentro do modelo de regressão logística ($p = 0,105$); a estação reprodutiva também não interferiu significativamente nos resultados ($p = 0,124$). Os dados numericamente superiores na estação de monta de 2018/19 poderiam ser explicados pelas melhores condições em que as doadoras se encontravam neste período, pois na estação anterior algumas apresentaram casos de endometrite, o que pode ter afetado negativamente a recuperação embrionária. A susceptibilidade a endometrite é causa mais importante de subfertilidade em éguas (MACEDO, 2002). Recomenda-se a realização de um criterioso exame reprodutivo antes da estação de monta a fim de verificar se existe alguma patologia do trato reprodutivo; em caso positivo, é importante efetuar o tratamento adequado para que a doadora expresse seu potencial máximo dentro da estação de monta.

Outro fator que deve ser levado em consideração é o garanhão. Na estação de 2017/18 foram realizados um grande número de cobrições e inseminações utilizando o sêmen de um mesmo garanhão do haras e poucas inseminações de outros garanhões; já na estação seguinte observou-se uma maior variedade entre os sêmens utilizados. É notório que fertilidade seminal é extremamente variada entre os garanhões (CAMARGO, 2008). A influência do garanhão na taxa de recuperação embrionária foi verificada em duas estações de monta; na primeira cinco garanhões foram estudados e se obteve uma diferença significativa entre os

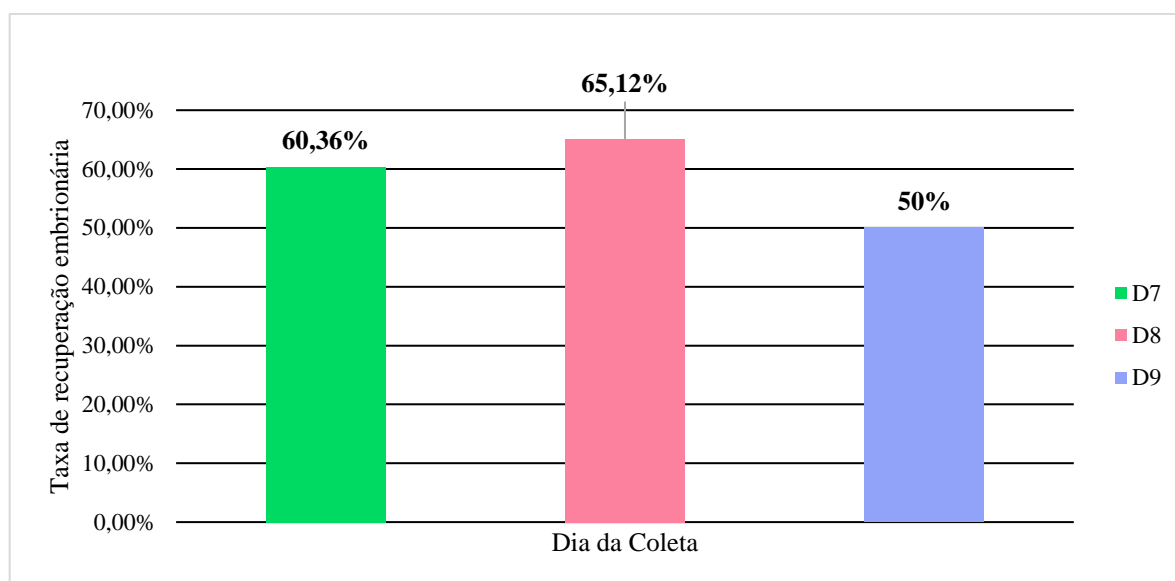
animais sendo 28,6; 65,0; 62,9; 66,7 e 84,2% de recuperação embrionária; na segunda estação com quatro garanhões também teve diferença significativa com 44,4%; 56,2; 71,4 e 73,7% (FLEURY et al., 2001). Resultado semelhante foi observado no presente estudo onde a troca de garanhão influenciou no aumento da taxa de recuperação embrionária, provavelmente devido a fertilidade do sêmen do animal.

A taxa de recuperação embrionária total de 59,89% nas duas estações de monta está dentro dos padrões encontrados no Brasil que variam de 45,5 a 83,3% (CAMARGO, 2008), entretanto encontra-se abaixo do encontrado na literatura por Tesk (2017) de 80% e Rua et al. (2018) de 68%; e acima da taxa obtida por Mccue (2011) com 46,8% em ovulações únicas e 41,1% em ovulações duplas. É importante mencionar que as diferenças encontradas por cada autor abrangem uma gama de interferências, entre elas, o estado nutricional e reprodutivo, a sanidade, a raça de cada doadora, a habilidade do técnico, o manejo desses animais no momento da recuperação embrionária, os materiais utilizados, assim como o clima do local de estudo.

Doadoras atletas ou aquelas submetidas a estresse de trabalho intenso que demanda uma grande quantidade de energia, podem ter a sua função reprodutiva comprometida (LOPES, 2015). Esse fator pode ter interferido na taxa de recuperação embrionária no presente trabalho, pois a grande maioria das doadoras participavam de atividades esportivas e apenas uma pequena parcela era destinada somente para reprodução. Montensen (2009) explica que éguas em exercícios associadas com aumento da temperatura retal tem alteração na dinâmica do ciclo estral, e atrasos significativos no tempo de ovulação e crescimento folicular, sendo que o exercício estimula uma resposta de estresse hormonal aumentando a liberação de corticosteroides, o que suprime a liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e Hormônio Luteinizante (LH), em seu estudo demonstrou que o aumento da temperatura retal durante o exercício influenciou na qualidade embrionária, observou uma diminuição de 50% na qualidade dos embriões em comparação com embriões de éguas não exercitadas. Entretanto Panzani et al. (2016) observaram que a taxa de recuperação de embriões não foi afetada pela atividade, sendo assim as éguas em atividade esportiva não devem ser eliminadas do programa de TE.

O dia da coleta não determinou diferença estatística ($p = 0,661$) sobre a taxa de recuperação embrionária, no entanto observou-se uma tendência a se recuperar um número maior de embriões no D8, como observado no gráfico 1.

Gráfico 1 – Taxa de recuperação embrionária em função do dia da coleta



Os dados obtidos corroboram com os encontrados por Fleury e Alvarenga (1999) onde não verificaram diferenças significativas na recuperação embrionária no D7, D8 E D9 (49,3, 58,0 E 54,5%), respectivamente, e Jacob et al. (2012) que avaliaram os dias 6,7, 8,9,10 (42%, 61%, 66%, 59% e 56%) não tendo diferenças significativas, referindo-se apenas uma tendência para o aumento da taxa de recuperação embrionária no D8.

Sugere-se que os dados obtidos não apresentaram diferença estatística entre os dias da coleta em razão da janela utilizada, onde as recolhas se concentraram nos dias 7, 8 e 9 pós ovulação da doadora. O padrão adotado justifica-se pelo fato de que teoricamente nessa idade o embrião é facilmente visualizado a olho nu no copo coletor no momento do lavado uterino, o que proporciona uma agilidade nos procedimentos de coletas, identificação, manipulação e transferência (Fleury e Alvarenga 1999, Silva, 2003; Riera, 2009).

Em relação a idade das doadoras observou-se que a idade das doadoras teve influência significativa sobre a taxa de recuperação embrionária, ($p=0,025$), onde os animais até 3 anos e os entre 3 e 6 anos tiveram uma taxa de recuperação maior comparadas aquelas acima de 6 anos, conforme observado a tabela 2.

Tabela 2 – Embriões coletados em função da idade da doadora

Idade da doadora	Taxa de embriões coletados	p
Até 3 anos	72,73% ^a	
De 3 a 6 anos	66,10% ^{ab}	0,025
Acima de 6 anos	51,11% ^b	

Letras minúsculas sobrescritas (a, b) dentro de uma mesma coluna, indicam diferença estatística ($p < 0,05$) para diferentes faixas etárias, sob o modelo de regressão logística.

Os dados obtidos estão em acordo com Zoca (2009) onde ele descreve que as taxas de recuperação embrionária diminuem com o aumento de idade da doadora. Já Mccue et al. (2010) num estudo retrospectivo de 492 lavados, observou uma porcentagem maior de embriões recuperados de éguas com menos de 10 anos em comparação as éguas com mais de 15 anos.

A menor fertilidade em éguas mais velhas ocorre em função destes animais apresentarem maior pré-disposição a distúrbios da ovulação e maturação oocitária que podem ou não estar associadas a endometrite crônica e distúrbios hormonais (ZOCA, 2009). Sabe-se que a reserva ovariana da égua possui aproximadamente 40.000 folículos primordiais, os quais vem sendo usado a cada ciclo, assim com o avançar da idade ocorre um declínio na quantidade de folículos disponíveis que caracteriza o envelhecimento reprodutivo. O efeito da idade sobre a atividade ovariana tem sido caracterizado também pelo decréscimo do volume ovariano, pela redução do número de folículos antrais e pela menor vascularização do estroma ovariano (ULIANI, 2016). No entanto, é comum observar em planteis de doadoras de TE a presença de éguas mais velhas por se tratar de animais que possuem uma carreira, o que comprova assim as habilidades herdáveis e as características das proles.

O tipo de sêmen utilizado também apresentou diferença significativa ($p = 0,026$), no presente estudo. Foi analisada a influência da IA ou Monta Natural sobre a taxa de recuperação embrionária e observou-se uma maior taxa de recuperação embrionária quando utilizado a IA em relação a Monta Natural, conforme descrito na tabela 3.

Tabela 3 – Taxa de Recuperação embrionária em relação a IA ou Monta Natural

Tipo de Sêmen	Taxa de embriões coletados	p
Inseminação Artificial	63,89% ^a	
Monta Natural	44,74% ^b	0,026

Letras minúsculas sobrescritas (a, b) dentro de uma mesma coluna, indicam diferença estatística ($p < 0,05$) para os diferentes tipos de sêmen utilizado sob o modelo de regressão logística.

Teria sido interessante relacionar e comparar as inseminações artificiais realizadas com sêmen fresco, resfriado ou congelado, no entanto, esses dados não estavam disponíveis; verificou-se apenas que, em sua maioria, as inseminações foram realizadas com sêmen fresco diluído. É importante ressaltar que além de ser necessário um sêmen de boa qualidade e uma dose de sêmen suficiente, normalmente éguas inseminadas com sêmen fresco têm uma maior probabilidade de produzir embriões em comparação com as inseminadas com sêmen refrigerado ou congelado (SQUIRES et al., 1999). O sêmen congelado quando depositado no útero tem uma longevidade (viabilidade) menor em comparação ao sêmen fresco, diluído e transportado usado na IA, o que torna a associação do momento da inseminação com a ovulação da égua muito mais desafiante e crítica para se obter êxito (LEY, 2006). O ideal, quando se utiliza esse tipo de sêmen, é realizar um controle adequado durante o estro, diminuindo ao máximo o intervalo de tempo entra a inseminação e a ovulação, já que o tempo de vida e a motilidade dos espermatozoides é menor no sêmen congelado (SAMPER, 2009).

Nesse estudo, as maiores taxas de recuperação embrionária terem sido por IA se devem provavelmente ao fato de que a maioria das inseminações artificiais foram realizadas com o sêmen fresco diluído, em que o diluente adicionado contribui para a longevidade espermática. A adição de um diluente tem como vantagens o tratamento antibiótico, o que diminui a contaminação bacteriana; diluição de fatores tóxicos presentes no plasma seminal e; melhora da fertilidade seminal em decorrência do suporte de nutrientes contidos no diluidor (CARDOSO, 2010).

No tocante à taxa de prenhez das receptoras pós inovuladas obteve-se 35,77% de prenhez nas duas estações. Diferentemente da taxa de recuperação embrionária, a taxa de prenhez apresentou diferença estatística entre as épocas reprodutivas ($p=0,048$); na estação de monta 2017/18 foi de 29,57% e na 2018/19 foi de 47,36%, como descrito na tabela 4.

Tabela 4 -Taxa de prenhez em função da estação reprodutiva

Estação Reprodutiva	Taxa de Prenhez	p
2017/2018	29,5% (21/71) ^b	0,048
2018/2019	47,36% (18/38) ^a	
Média	35,77% (39/109)	

Letras minúsculas sobrescritas (a, b) dentro de uma mesma coluna, indicam diferença estatística ($p<0,05$) nas diferentes estações reprodutivas sob o modelo de regressão logística.

As taxas de prenhez obtidas nesse estudo encontram-se abaixo do encontrado na literatura, Ruas (2018) com 66,7 % e Cuervo-Arango et al. (2018) com 76,3% de taxa de

preñez. As taxas de preñez após as TE esperada em equinos é de aproximadamente 75% (ROSA, 2018). As diferenças encontradas na literatura podem estar relacionadas às condições de trabalho de cada autor, heterogeneidade dos animais, índole das receptoras assim como manejo, nutrição, saúde do trato reprodutivo, método de transferência, manipulação e morfologia do embrião, sincronia entre receptoras e doadoras e intervalo de detecção da preñez.

As diferenças encontradas na taxa de preñez entre as estações reprodutivas não parecem estar relacionadas a técnica empregada pois foi a mesma em ambas estações de monta, mas sim às receptoras. Por representar um número elevado de animais no plantel de TE, geralmente as receptoras não são submetidas a condições de manejo ideais, o que pode ocasionar falhas ou prejuízos como a manutenção da égua sem ter um retorno econômico da mesma, e possíveis perdas embrionárias caso ela seja utilizada, o que poderia justificar o fato do presente estudo apresentar uma taxa de preñez muito abaixo do que os encontrados na literatura. Das receptoras utilizadas, algumas apresentavam problemas reprodutivos como endometrite e uma possuía peneumovagina; a alimentação também pode ter influenciado, já que as fêmeas permaneciam em pastos com *Brachiaria Humidicula* essa pastagem apresenta altos níveis de oxalato e baixos níveis de cálcio (PUOLI FILHO et al.,1999), que por si só não é suficiente para atender as exigências nutricionais diárias para que a égua possa ciclar adequadamente.

Ainda sobre o estresse, é importante destacar que no momento da inovulação a grande maioria dessas receptoras se mostravam indóceis, onde o estresse no momento da inovulação pode ter influenciado na baixa taxa de preñez, pois sabe-se que éguas estressadas no momento da deposição do embrião podem apresentar concentrações elevadas de cortisol e PGF2 α , um agente luteolítico que pode levar a lise do CL primário e diminuição da produção de hormônios reprodutivos (ROSA, 2018).

A idade das receptoras não influenciou na taxa de preñez, quando comparado os animais até 3 anos de 3 a 6 anos e acima de 6 anos ($p=0,678$) como observado na tabela 5.

Tabela 5 – Taxa de preñez em função da idade receptora.

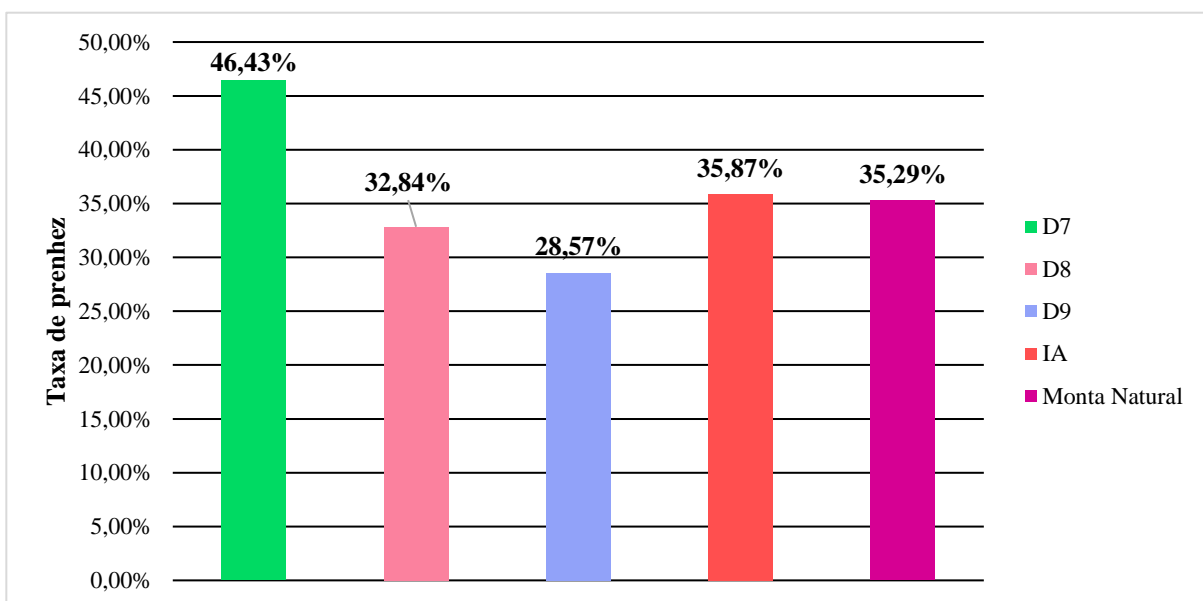
Idade da receptora	Taxa de preñez	p
Até 3 anos	42,86%	
De 3 a 6 anos	39,66%	0,678
Acima de 6 anos	29,55%	

Não houve diferença estatística no modelo de regressão logística ($p > 0,05$).

Liberato (2012) também não observou influência da idade das receptoras na taxa de prenhez onde foram semelhantes entre os grupos de 2 a 7 anos (79,5%); 8 a 14 (81,1%); e acima de 15 anos (80%). Já Rabelo et al. (2009) encontraram diferença quanto a faixa etária as éguas com mais de 11 anos exibiram taxa de prenhez menor do que as faixas entre 6 e 8 anos e entre 9 e 11 anos. Isso se deve provavelmente ao fato que éguas idosas apresentam baixa qualidade do ambiente uterino (CARNEVALE; GINTHER, 1992), fato esse associado com baixo tônus e contratilidade uterina, endometrite, cistos uterinos e distúrbios da ovulação e maturação oocitária que esses animais podem vir a apresentar (LOSINNO; ALVARENGA, 2006) afetando assim as taxas de prenhez.

O dia da coleta do embrião também não influenciou a taxa de prenhez ($p=0,679$), assim também como o sêmen, onde os embriões coletados de IA não houve diferenças dos produzidos por Monta Natural ($p=0,951$) em relação a taxa de prenhez das receptoras como observados no gráfico 2.

Gráfico 2 –Taxa de Prenhez em relação ao dia da coleta e o sêmen utilizado



Carvalho (2012) também não observou influência do dia do embrião sobre a taxa de prenhez. Diferente do reportado por Jacob et al., (2012) onde a taxa de prenhez foi mais elevada para os embriões do dia 7 (76%) em comparação com o D6 (50%); D8 (64%) e D9 (44%), o autor ainda explica que a idade do embrião deve ser considerado em combinação com o dia da ovulação da receptora afim de se transferir um embrião em um útero que esteja em sincronia com o estágio de desenvolvimento do mesmo.

Fleury et al. (2001) também não observaram diferença significativa nos índices de prenhez onde comparou a monta natural (87,5%) e inseminação artificial com sêmen fresco (73,7%) ou refrigerado (80,3%). Mccue (2011) explica que os embriões produzidos por sêmen congelado originam embriões pequenos em relação aquelas inseminadas por sêmen fresco ou refrigerado, supondo que isso pode ser devido há um atraso na fertilização e ou desenvolvimento embrionário no caso de uso de sêmen congelado.

Embora não registrado nesse estudo, outro fator que é importante a se levar em consideração é o dia da TE na receptora onde essas devem estar em sincronia com a doadora. A janela de sincronia utilizada é do quarto (D4) ao oitavo (D8) dia após a ovulação (SQUIRES, 2003; LOSINNO e AVALRENGA, 2006), entretanto Caiado et al. (2007) verificaram que o tratamento diário com progesterona iniciado no dia da ovulação permite ampliar essa janela, pois com esse tratamento permitiu utilizar a receptora já no segundo dia após a ovulação (D2). Lopes (2013) descreve que o ambiente uterino altera-se sob a influência da progesterona, sendo que um embrião em um útero assincrônico, afeta a taxa de prenhez, ainda em seu estudo concluiu que as receptoras que se encontravam entre os 5 e 6 pós ovulação apresentaram as melhores taxas de prenhez, Já Carvalho (2012), concluiu que o dia pós ovulação em que a receptora se encontrava no momento que recebeu o embrião não influenciou significativamente nas taxas de gestação.

É importante também destacar as características do útero, cérvix e CL no momento da transferência pois essas determinam um fator importante para a manutenção da gestação. Embora a maioria das éguas que receberam embrião encontravam-se como aceitáveis (bom tônus uterino, cérvix fechada, CL definido e ausência de fluido), esses dados não foram registrados, não sendo possível avaliar a sua influência na taxa de prenhez.

6. CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos conclui-se que a taxa de recuperação embrionária é superior quando as doadoras são mais jovens e a forma de acasalamento utilizada é a inseminação artificial. A taxa de prenhez das receptoras sofreu influência da estação reprodutiva, e não da idade da receptora, idade embrionária e tipo de sêmen utilizado.

Diante dos resultados encontrados enfatiza-se a importância de se trabalhar com animais jovens dentro de um programa de TE, e que estejam com uma boa condição uterina e livre de doenças reprodutivas. A IA traz diversas vantagens em relação a monta natural, e pode ser amplamente utilizada, recomendando aos proprietários que sempre que possível, optem por sêmen fresco ou refrigerado, o que aumenta a probabilidade de recuperação embrionária. Para que se aumente as taxas de prenhez após a TE nas receptoras é de suma importância que esses animais estejam em boas condições nutricionais, sendo recomendado que se forneça quantidade adequadas de proteína, vitaminas, minerais, essas devem ser dóceis, com boa habilidade materna e necessitam ser vacinadas e vermifugadas regularmente, garantindo o sucesso na biotécnica de transferência de embriões.

7. REFERÊNCIAS

ALONSO, M. A. . **Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas à receptora de embrião.** Botucatu, 2007. 72p. Dissertação de mestrado (Reprodução Animal) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 2007.

ALVARENGA M. A.; TONGU E. A. O. T. . Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, n.1, p.19-24, 2017.

ALVARENGA, M. A. . Problems and solutions in equine embryo transfer programs in Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. Supl 2, p. 319-333, 2010.

ARISTIZÁBAL, V. V. H. et al. . Transferência de embriões em éguas receptoras anovulatórias. **Revista de Medicina Veterinária**, n. 33, p. 137-147, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Complexo do Agronegócio do Cavalo.** Brasília: MAPA, 2016.

CAIADO, J. R. C. et al. . Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 360-368, 2007.

CAMARGO, C. E. . **Fatores reprodutivos que interferem em um programa comercial de transferência de embriões em éguas de hipismo.** 2008. 79p. Dissertação de mestrado (Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CARDOSO, A. M.. **Inseminação artificial em éguas.**2010.33p. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2010.

CARNEVALE, E. M. et al. . Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 54, n. 6, p. 965-980, 2000.

CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. . Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. **Theriogenology**, v. 37, n. 5, p. 1101-1115, 1992.

CARVALHO, A. L. . **Fatores que influenciam o sucesso de um programa de transferência de embriões equinos**. 2012. 62p. Dissertação de Mestrado (Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa / Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2012.

COSTA, L. D. P. . **Avaliação da taxa de fertilidade em éguas da raça puro sangue lusitano: efeito da idade da égua e do tipo de cobrição (cobrição natural vs inseminação artificial)**. 2014. 78p. Dissertação de Mestrado (Medicina Veterinária) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014.

CUERVO-ARANGO, J. et al. . Likelihood of pregnancy after embryo transfer is reduced in recipient mares with a short preceding oestrus. **Equine veterinary journal**, v. 50, n. 3, p. 386-390, 2018.

EVANGELISTA, R. M. . **A transferência de embriões em equinos e a importância da égua receptora**. 2012. 53p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária, Porto Alegre, 2012.

FARIA, D.R.; GRADELA A. . Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, Belo Horizonte, v.34, n.2, p.114-122, 2010.

FARIAS, L.D. et al. . Indução da ovulação em éguas: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.40, n.1, p.17-21, 2016.

FLEURY, J. J. et al. . Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 29-33, 2001.

FLEURY, J. J.; ALVARENGA, M. A. . Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. **Theriogenology**, p. 261-261, 1999.

GOMES, G. M.; GOMES, L. P. M. . Fatores que influenciam a produção de embriões em éguas doadoras. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. Supl 2, p. 199-206, 2008.

GOMES, J. L. . **Avaliação de receptoras para transferência de embrião em equinos**. 2013. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2013.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. . **Biotécnicas aplicada a reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Roca. 2016. 628p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. . **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.

HINRICHS, K. Assisted reproductive techniques in mares. **Reproduction in Domestic Animals**.v. 53, n.2, p.4-13, 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. disponível em:
<<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 09 maio de 2019.

JACOB, J. C. F. et al. .Effect of embryo age and recipient asynchrony on pregnancy rates in a commercial equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 77, n. 6, p. 1159-1166, 2012.

LEY, W.B. . **Reprodução em éguas: para veterinários de equinos**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2006. 220p.

LIBERATO, P. et al. . Comparação das taxas de recuperação e taxas de prenhez de embriões de doadoras da raça Quarto de Milha de diferentes idades – Resultados preliminares. **XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, Foz do Iguaçu, 2012.

LIRA, R. A. et al. . Transferência de embrião em equinos: revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 3, n. 4, p. 132-140, 2009.

LOPES E.P. . Transferência de embriões equinos: maximizando resultados com a escolha de receptoras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.39, n.1, p.223-229, Belo Horizonte, 2015.

LOPES E.P. et al. . Correlação dos fatores que interferem na eficiência reprodutiva de éguas Mangalarga Marchador em programas de transferência de embriões. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 35(1):69-75, 2013.

LOPES, E. P. . **Parâmetros reprodutivos de éguas Mangalarga Marchador em projeto comercial de transferência de embriões**.2004. 40p. Monografia de pós-graduação (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

LOSINNO, L.; ALVARENGA, M. A. . Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, Araxá. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.39-49, 2006.

MACEDO, L. P. . **Endometrite persistentes pós – cobertura em éguas**. 2002.16p. Monografia de pós-graduação (Reprodução Animal) – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.

MARIZ, T.M.A.et al. . Influências do clima sobre a atividade reprodutiva de éguas da raça Mangalarga Marchador no estado de Sergipe. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.2, p.39-43, 2008.

MCCUE, P. M. . Transferência de Embriões em Equinos – Avaliação do Embrião / **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP**. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 3, p. 80–83, 2011.

MCCUE, P. M. et al.. Embryo recovery procedures and collection success: results of 492 embryo-flush attempts. In: **Proceedings of the Annual Convention of the AAE**. p. 318-321, 2010.

MCCUE, P. M. Transferencia de Embrioes em Equinos – Recuperacao do Embriao / **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP**, v. 9, n. 3, p. 94–98, 2011.

MELO, C.M. . **Indução de ovulação em éguas**. 2006. 24f. Monografia (Doutorado em Reprodução Animal) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

MONTECHIESI, D. F. . Transferência de embriões em equinos e os fatores relacionados as taxas de prenhez. **Ciência Animal.**, v. 25, n. 1, p. 187-194, 2015.

MORTENSEN, C. J. et al. . Embryo recovery from exercised mares. **Animal reproduction science**, v. 110, n. 3-4, p. 237-244, 2009.

NETO, O. I. V. . **Protocolos hormonais para transferência de embriões equinos em tempo fixo**. 2017. 42p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2017.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y.. Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at nonsurgical egg transfer in horses. **Journal of Reproduction and Fertility**, 31, 187-195, 1972.

PAIVA JUNIOR O.L. . **Endometrite na égua**. 2008. 40p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2008.

PANZANI, D. et al.. Factors affecting recipients' pregnancy, pregnancy loss, and foaling rates in a commercial equine embryo transfer program. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 37, p. 17-23, 2016.

PERRY, G. .2013 Statistics of embryo collection and transfer in domestic farm animals. IETS. Versailles, France: **Embryo Transfer Newsletter**, v.34, 8 p. 2014.

PUOLI FILHO, J. N. P. et al. . Suplementação mineral e mobilização de cálcio nos ossos de equinos em pastagem de *Brachiaria humidicula*. **Pesquisa Agropecuária brasileira**. Brasília, v.34, n.5,p. 873-878, 1999.

RABELO, M. C. et al. .Taxas de prenhez e de perda embrionária em éguas da raça Mangalarga Marchador em diferentes status reprodutivos utilizadas como receptoras em programas de transferência de embriões. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 3, n. 4, p. 13-19, 2009.

RIERA, F. L. . Equine embryo transfer. In: SAMPER, J. C. **Equine breeding management and artificial insemination**, Philadelphia: Saunders Elsevier, p.185-199, 2009.

ROCHA, R.M.P. et al. . Melatonina e reprodução animal: implicações na fisiologia ovariana. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.2, p.147-157, 2011.

ROSA, P. F.. **Biotécnicas da reprodução associadas à transferência de embrião na égua**. 2018.47p. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Faculdade De Veterinária, Porto Alegre, 2018.

RUAS, M. Alejandro Silva et al. Evaluation of environmental effects on reproductive characteristics of Mangalarga Marchador mares in a commercial embryo transfer program. **Animal reproduction science**, v. 195, p. 131-138, 2018.

SAMPER, J. C.. **Equine breeding management and artificial insemination**. 2^a ed.. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2009, 310p.

SILVA, A.G. . **Transferência de embriões em equinos (Revisão)**. 2014. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2014.

SILVA, L. A. . **Técnica ultra-sonográfica de injeção intra-uterina para transferência de embriões em equinos**. 2003. 145p. Tese de Doutorado (Pós-graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

SMITH, R. L. et al. Impact of moderate exercise on ovarian blood flow and early embryonic outcomes in mares. **Journal of animal science**, v. 90, n. 11, p. 3770-3777, 2012.

SOARES, C. M. T. . **Avaliação ginecológica de éguas receptoras de embrião viadiferentes métodos de diagnóstico**. Dissertação de mestrado (zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

SOUZA, R. T. R. . **Sincronização de receptoras no diestro para utilização em programa de transferência de embriões em equinos**. 2013. 42p. Dissertação de mestrado (Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013

SQUIRES, E. L. . Superovulation in mares. **Veterinary Clinical Equine**, v. 22, p. 819–830. 2006.

SQUIRES, E. L. Ma. . of the embryo donor and recipient mare. In: **Current Therapy in Equine Medicine**. p. 277-279, 2003.

SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M. . Superovulation in mares. **Animal reproduction science**, v. 99, n. 1-2, p. 1-8, 2007.

SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M.; VANDERWALL, D. . The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 51, n. 1, p. 91-104, 1999.

TOMAZELLA, D. . **Eficácia no tratamento para indução de ciclicidade em éguas fora do período reprodutivo**. 2013. 15p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2013.

ULIANI, R. C. . **Efeito da ovariectomia e idade sobre as concentrações séricas de hormônio Anti-Mülleriano em éguas.** 2016. 40p. Tese de doutorado (Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2016.

ZOCA, S. M. . **Fatores que interferem nas taxas de recuperação embrionária em éguas.** 19p. Trabalho de conclusão (bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009.

