



CENTRO UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO CURSO DE
MEDICINA VETERINÁRIA

MATHEUS VINICIUS GADELHA CORREIA BRITO
RODRIGO PRADO DE NOVAES

**PRINCÍPIOS FISIOLÓGICOS REPRODUTIVOS DA
FÊMEA EQUINA, APLICADOS A ABORDAGEM
DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

RECIFE/2022

Ficha catalográfica elaborada pela
bibliotecária: Dayane Apolinário, CRB4- 1745.

B862p Brito, Matheus Vinicius Gadelha Correia

Princípios fisiológicos reprodutivos da fêmea equina, aplicados à abordagem da técnica de inseminação artificial / Matheus Vinicius Gadelha Correia Brito, Rodrigo Prado de Novaes. Recife: O Autor, 2022.

42 p.

Orientador(a): Daniel da Silva Praia.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA. Bacharelado em Medicina Veterinária, 2022.

Inclui Referências.

1. Inseminação artificial. 2. Fêmea equina. 3. Fisiologia animal. I. Novaes, Rodrigo Prado de. II. Centro Universitário Brasileiro - UNIBRA. III. Título.

CDU: 619

RESUMO

O trabalho aqui desenvolvido visa analisar por meio de uma revisão de textos os princípios fisiológicos reprodutivos da fêmea equina, aplicados à abordagem da técnica de Inseminação Artificial, como descreve o tema. De maneira, a fazer uma descrição sequencial de toda trajetória da fêmea que será usada para reprodução por meio de Inseminação Artificial, descrevendo os processos que serão utilizados de maneira cuidadosa. Desta forma, o que se pretende é traçar uma linha do tempo detalhando procedimentos e as formas adequadas e mais indicadas de cada um. Assim, o que se busca é entender como todo processo de Inseminação Artificial deve ser conduzido, na expectativa de que o mesmo seja concluído com sucesso com o mínimo de erros e perdas possíveis. Tudo isto, na expectativa de fazer com que a Inseminação Artificial seja melhor acompanhada e difundida nos meios veterinários, indicando em algumas situações que pode ser uma forma de reprodução mais adequada, à depender da necessidade do criador. Assim, para que o processo tenha sucesso, é imprescindível o conhecimento dos profissionais que irão atuar na área, a fim de que não haja perdas, ou erros desnecessários.

Palavras-chave: Inseminação Artificial; Fêmea Equina. Fisiologia Animal.

ABSTRACT

The work developed here aims to analyze, through a review of texts, the reproductive physiological principles of the equine female, applied to the approach of the Artificial Insemination technique, as described in the theme. In order to make a sequential description of the entire trajectory of the female that will be used for reproduction through Artificial Insemination, describing the processes that will be used carefully. In this way, the intention is to draw a timeline detailing procedures and the appropriate and most indicated ways of each one. Thus, what is sought is to understand how the entire Artificial Insemination process should be conducted, in the expectation that it will be successfully completed with the least possible errors and losses. All this, in the hope of making Artificial Insemination better monitored and disseminated in veterinary circles, indicating in some situations that it may be a more adequate form of reproduction, depending on the breeder's needs. Thus, for the process to be successful, the knowledge of professionals who will work in the area is essential, so that there are no losses or unnecessary errors.

Keywords: Artificial Insemination; Equine female. Animal Physiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 METODOLOGIA.....	7
3 HISTÓRICO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	8
4 ANATOMIA DO TRATO REPRODUTIVO DA FÊMEA EQUINA.....	11
5 PUBERDADE.....	14
6 FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL DA FÊMEA EQUINA.....	16
7 HORMÔNIOS E CONTROLE ENDÓCRINO.....	19
8 DINÂMICA FOLICULAR.....	21
9 SELEÇÃO DAS FÊMEAS PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	23
10 PROTOCOLOS HORMONAIIS PARA SINCRONIZAÇÃO.....	27
11 DESCRIÇÃO DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	29
11. 1 Inseminação Artificial e sêmen fresco e refrigerado.....	31
11. 2 Inseminação Artificial em sêmen congelado.....	32
12 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

Para que se alcance o sucesso buscado nas práticas de manejo de um plantel, se faz necessário o devido conhecimento em torno da fisiologia reprodutiva do animal. De modo que o ciclo estral pode sofrer influência direta do fotoperíodo, nutrição, gestação, idade, e condições patológicas (HAFEZ; HAFEZ, 2004), inclusive de questões comportamentais devido à presença de animais entendidos como dominantes.

Nesta ordem, Fabino Neto *et al.* (2017), indica que, para que sejam alcançados índices satisfatórios em meio a uma criação de animais, o domínio do conhecimento em torno das questões fisiológicas que apontam o período e momento certos para a fertilização de uma fêmea, que se alinham com práticas corretas de manejo, se fazem essenciais no sentido de assegurar que se tenha o menor número de perdas possível.

De forma que, é recomendável que nos animais de produção, se consiga alcançar a puberdade ainda em seu estado precoce. Ainda que a maturidade sexual só se alcance um pouco mais tardiamente, ao se ter um equilíbrio entre idade, época do ano, nutrição e escore corporal, o que faz com que o animal esteja apto a gestação (SILVA, *et al.* 1998; KLEIN, 2014).

Neste sentido, Câmara *et al.* (2015), adverte que a escolha de matizes e de reprodutores se dá de modo cuidadoso, de modo que se avalia o escore corporal da mesma forma que a probabilidade de problemas como doenças sexualmente transmissíveis, no sentido de se evitar que elas venham a surgir posteriormente. De maneira que todas as avaliações devem ser no sentido de atender aquilo que o produtor busca.

Desta forma, as biotecnologias que se voltam a reprodução, como a Inseminação Artificial, objetivam fazer com que estes riscos genéticos de transmissão de doenças reprodutivas que afetam um rebanho, sejam minimizados, fazendo assim, com que haja uma otimização no melhoramento genético de todo plantel (GONÇALVES, *et al.*, 2002).

Em meio a tudo isto, o devido acompanhamento ginecológico no período de gestação, no sentido de que se mantenha a sanidade da fêmea e do filhote,

conjuntamente com a nutrição adequada, sem a ocorrência de estresse, se impõem como fatores importantes no sentido de garantir uma produtividade de qualidade (SMITH, 2006).

Assim, a palpação retal da mesma forma que a ultrassonografia, se aparentam como técnicas capazes de ajudar no controle gestacional, situação em que a ultrassom tem o papel de auxiliar na avaliação dos ovários, como também de suas estruturas, o útero, a cérvix, e ainda de alterações como a hidrometra e infecções uterinas. Sendo ainda uma ferramenta capaz de definir a estática, quantidade, idade e sexo do feto, podendo ainda apontar malformações e suas possibilidade (MENEZES, 2011).

Isto faz com que, em situações de alterações na reprodução, o problema esteja no manejo, em razão da falta do devido conhecimento da realização do momento mais oportuno para que seja realizada a cobertura ou a Inseminação Artificial, podendo ainda ter o fator negativo destas se darem com animais não adequados, com a saúde e a nutrição deficientes, assim como outros fatores. Neste caso, o conhecimento do sistema reprodutivo das espécies, nesse caso em especial das fêmeas equinas, da mesma forma que as técnicas que podem e devem ser utilizadas na busca para que o plante tenha o melhor desenvolvimento possível, se configuram de grande relevância para que a produção animal alcance o sucesso buscado (HOOPER, 2015; GONÇALVES, *et al.*, 2002).

Dito isto, em meio a toda contextualização serão analisados pontos como: Histórico da inseminação artificial; Anatomia do trato reprodutivo da fêmea equina; Puberdade; Fisiologia do ciclo estral da fêmea equina; Hormônios e controle endócrino; Dinâmica folicular; Seleção das fêmeas para inseminação artificial; Protocolos hormonais para sincronização e Descrição da técnica de inseminação artificial, através da Inseminação Artificial de sêmen fresco e refrigerado e também da Inseminação Artificial em sêmen congelado. Buscando com a abordagem desses pontos questionar a maior necessidade de se evidenciar como esses princípios se aplicam a técnica da IA?

Tendo como objetivo descrever a IA e seus principais métodos de aplicação, na busca por alinhar um modelo de técnicas mais precisas e eficazes.

2 METODOLOGIA

Neste aspecto, o método utilizado para a realização deste trabalho será a revisão de literatura através da pesquisa bibliográfica por meio de artigo, livros, publicações que darão o devido suporte na construção da referida pesquisa. De tal modo, será buscado o aprofundamento em torno do tema escolhido no sentido de embasar a discussão levantada e assim poder apontar novas ideias em torno da prática da inseminação artificial em equinas ainda em seus primeiros anos de vida.

Os critérios de inclusão utilizados foram pesquisas voltadas à IA em fêmeas equinas, através de pesquisas já realizadas e que trouxessem embasamento naquilo que aqui foi tratado. Enquanto para os critérios de exclusão foram observados trabalhos que não se voltassem à IA em fêmeas equinas, tratando de outros animais, de modo a não corresponder ao tema em discussão.

3 HISTÓRICO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Segundo pesquisas o melhoramento genético animal iniciou-se com a domesticação dos mesmos. Essa domesticação é definida, como sendo o processo pelo qual no decurso dos tempos o homem passa a fazer alterações genéticas nos animais de maneira a colocar as características que entendia serem mais benéficas e vantajosas para cada situação em especial. Inicialmente teve esse processo com os cães, por volta de 15000 anos, sendo o lobo o primeiro animal a sofrer essa alteração. Já no meio pecuário as primeiras espécies domesticadas se pode dizer que foi a ovina, por volta de 11000 anos, em seguida a caprina com 10500 anos, e depois a suína, e a bovina com aproximadamente 10300 anos. De modo que a domesticação no setor pecuário, tem como objetivo o melhoramento e aumento das espécies na produção de carne, leite, pele e fibras (MARTINS; SANTOS, 2019).

Sobre isto, Martins e Santos (2019) apontam então que, até por volta do século XVIII, a busca pelo melhoramento animal se dava por meios experimentais, não existindo critérios específicos. Os criadores realizavam os cruzamentos seguindo características externas, ou aspectos morfológicos, em conformidade com aquilo que era de seu interesse, não utilizando qualquer base científica relacionada a seleção de animais para reprodução. Robert Bakewell (1725 -1795), um agricultor criador de animais, foi o precursor na Europa do melhoramento animal, mais precisamente na Inglaterra, sendo ele a pessoa que fez os primeiros registros falando de manutenção desses animais, a fim de que assim se desse uma seleção objetiva.

Ou seja, através de sua observância em critérios de qualidade em cada animal ele conseguia fazer com que a reprodução fosse cada vez mais selecionada. E como resultado, obteria animais cada vez melhores, dentro daqueles padrões que ele entendia como sendo os mais precisos para cada tipo de uso. Assim,

A seleção dos animais para a reprodução tinha como base a beleza, a utilidade, a textura da carne e a capacidade para a engorda. Utilizou a consanguinidade (acasalamento de animais aparentados e com características semelhantes) para fixar determinadas características desejáveis nos animais e também introduziu os testes

de descendência: método de avaliar o desempenho de um grupo pequeno de descendentes e usar essa informação para selecionar o melhor pai reprodutor da futura descendência. Promoveu a ideia de "criar o melhor para o melhor" (MARTINS; SANTOS, 2019, p. 107).

Ainda que a zootecnia viesse a ter início e se desenvolver realmente como ciência, mesmo estando ainda distante de conseguir discutir aspectos na área econômica, já no século XVIII, Lazzaro Spalanzani, já em seus pensamentos divagava sobre a extensão aplicativa da inseminação artificial, de modo que se davam testes iniciais como demonstração. Um século após, Ilya Ivanov dá início às práticas de Inseminação Artificial, passando a entender seu significado como avanço na tecnologia (SILVA, 2020).

Em sua pesquisa, Silva (2020), destaca que no início do século XX, alguns técnicos e cientistas buscaram o desenvolvimento de métodos mais profundos, porém, os resultados não foram os esperados. As razões para esses resultados escassos, podem ter sido pela falta de conhecimento mais profundo sobre anatomia, fisiologia, e patologia da reprodução, como também o comportamento nos dois sexos estudados, podendo ser do ponto de vista biológico, como também técnico, como ainda um trabalho em torno de espécies não tão fáceis como os equinos e os cães.

Em seus escritos, Silva (2020), descreve que foi a partir dos anos 30, em países como Itália e Alemanha que passou-se a utilizar a Inseminação Artificial como prevenção de doenças genitais, doenças como brucelose, tricomoníase, vibriose entre outras. O método teve sua aplicabilidade de maneira mais organizada na Dinamarca entre os anos de 1938 e 1939, ao serem criadas cooperativas voltadas a inseminação, finalizando fazer um melhoramento na zootecnia bovina, em seguida passando a ser feita em outros países da Europa, até chegar a seu modo de aplicação sistemática que se tem atualmente.

Assim, Silva (2020), descreve que, o conhecimento tecnológico da mesma forma como a aplicação sistemática a técnica de IA veio a ser possível, primeiramente, a partir da visão que levou a construção da primeira vagina artificial, sendo esta criada por Amantes em 1914, seguindo-se pela criação de eficientes menstros diluentes e recentemente com os avanços e técnicas de conservação mais prolongada "in vitro", se tem o material espermático através de congelamento.

Neste aspecto, é possível observar o que descreve Fernandes (2012, p. 2), aponta que, em equinos, há um progresso envolvendo estudos dos eventos precoces de fertilização como lentos ao se traçar um comparativo com outras espécies e animais domésticos. De maneira que, “a produção *in vitro* (PIV) de embriões depende de uma série de fatores como: disponibilidade de ovócitos imaturos saudáveis, métodos de maturação *in vitro* e capacitação espermática eficientes e condições ótimas de cultivo”. De maneira que, “os índices de sucesso de etapas individuais que envolvem a PIV em equinos ainda estão longe de permitirem a utilização destas técnicas em protocolos de rotina, como acontece em bovinos”.

Assim, Santos (2012), considera que as principais e mais tradicionais técnicas de reprodução assistida nos equinos, incluem a Inseminação Artificial e a transferência de embriões. Contudo, o uso destes tipo de técnica não possibilita que se alcance a gestação em éguas que apresentam infertilidade, assim como de animais que venham a óbito. Contudo é possível trazer o que aponta Braga (2017), quando destaca que:

A inseminação artificial, além de acelerar o melhoramento genético do rebanho, possibilita uma larga expansão das características de garanhões de qualidade genética superior. Na espécie equina, essa técnica vem alcançando bons índices de fertilidade e promovendo o progresso genético num período significativamente menor do que o dispensado com a monta natural Essa técnica ainda proporciona um menor desgaste dos garanhões e a não disseminação de doenças sexualmente transmissíveis (BRAGA, 2017, p. 144-145).

Ou seja, ainda que não consiga a gestações em éguas inférteis ou animais em óbito, a IA, aumenta seu valor quando consegue trazer de maneira mais célere um melhoramento genético, facilitando que características indispensáveis sejam reforçadas/melhoradas, na medida em que a fertilidade passe a ser melhor trabalhada e da forma correta, na promoção de uma genética acima do nível buscado.

Como se pode observar a IA, tem uma longa trajetória histórica, mesmo que cientificamente isto não seja tão comprovado, considerando que apenas quando os estudos começaram a ser melhor desenvolvidos, é que se pode considerar que havia uma pesquisa em andamento e a construção de um percurso de maior relevância em torno do tema. Entretanto o homem sempre buscou formas de fazer

com que a genética de forma voluntária ou involuntária conseguisse trazer para a sociedade e a vida das pessoas melhorias no sentido de proporcionar qualidade, força, resistência e tantas outras características que fazem com que cada vez mais a genética desses animais seja favorecida.

4 ANATOMIA DO TRATO REPRODUTIVO DA FÊMEA EQUINA

O conhecimento em torno da anatomia que compõem os órgãos reprodutivos das fêmeas é algo de suma importância para a correta identificação das patologias capazes de afetar a capacidade reprodutiva destas, da mesma maneira que para compreender as diferenças no manejo no emprego de determinadas biotecnologias reprodutivas que se aplicam aos animais domésticos (SILVA, 2020).

Assim, Silva (2020), aponta que:

Os órgãos genitais da fêmea incluem os órgãos genitais internos (ovários, ovidutos, útero, cérvix, vestíbulo e vagina) e os órgãos genitais externos (lábios vulvares e clitóris). Os ovários produzem tanto gametas femininos quanto hormônios. As tubas uterinas pares capturam os oócitos liberados pelos ovários e os transportam para o útero, onde o ovo fertilizado é mantido. A vagina serve como órgão copulatório e, juntamente com sua continuação, o vestíbulo, como canal de parto e passagem para excreção urinária (SILVA, 2020, p. 17).

Assim, em sua pesquisa Silva (2020), explica que a forma do ovário da fêmea equina, é arredada com uma fossa de ovulação; onde o número de folículos que maduram varia entre 40 e 80; a bolsa ovárica é estreita com uma fenda sobre a fossa de ovulação; a longitude do oviduto pode ir e 20 à 30 cm; sendo o útero bicorno com fusão alta; a longitude dos córneos vai de 15 à 25 cm; a longitude do corpo vai de 15 à 20 cm; as características da cérvix, são de pregas longitudinais; a longitude da cérvix indo de 7 à 8 cm; sendo a longitude da vagina de 20 à 35 cm; os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios vão de 40 à 60 mm; e o diâmetro do corpo lúteo vai de 10 à 25 cm (SILVA, 2020).

Desta forma, Reghim (2020), descreve o trato reprodutivo da seguinte maneira: sua composição se dá por meio de 2 ovários, ainda de duas tubas uterinas ou ovidutos, sendo composto também pelo útero, vagina e vulva. O sistema aqui

descrito como reprodutivo feminino, tem a responsabilidade por produzir e liberar os gametas femininos o ovócitos, ao passo que sendo este liberado pelos ovários, pode então receber a fecundação do gameta masculino – o espermatozoide, ainda sendo responsável para que haja um ambiente propício a fecundação e o desenvolvimento dos embriões (REGHIM, 2021).

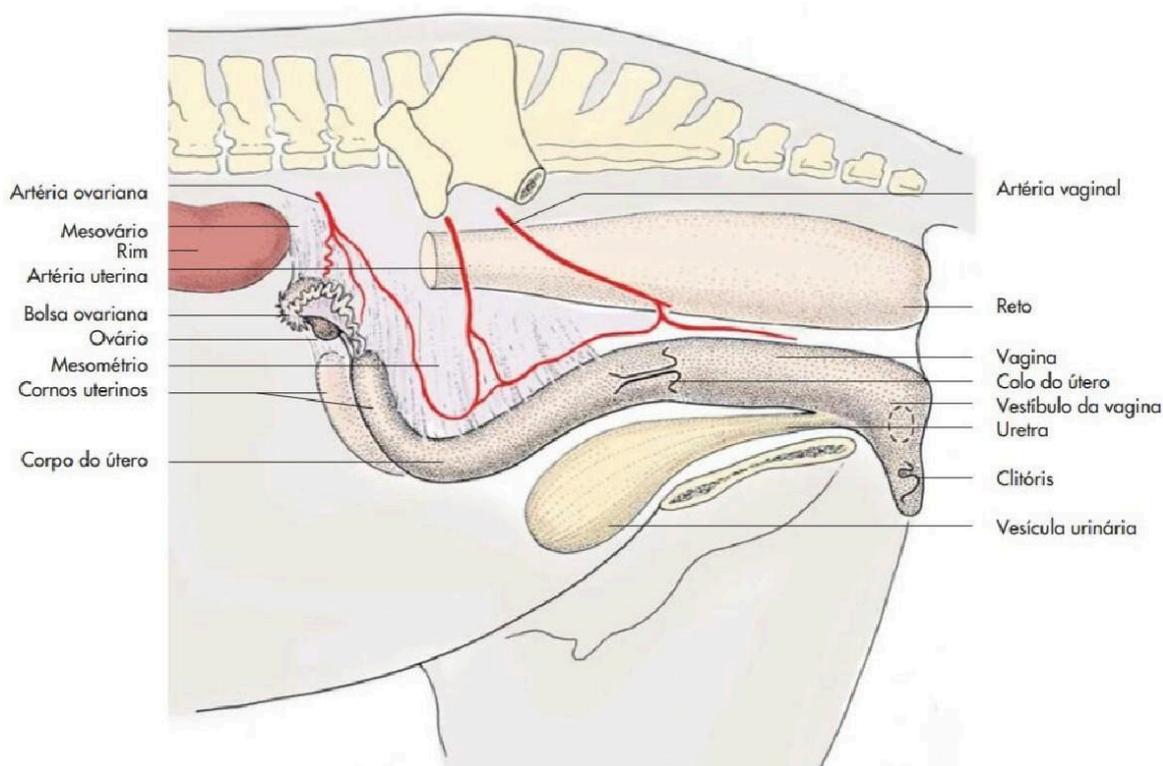


Figura 1: Órgão genitais femininos da égua. **Fonte:** König & Liebich, 2016.

O trato reprodutivo da fêmea equina se compõe dos seguintes órgãos: ovários; ovidutos; útero; vagina; vestibulo e vulva. Onde podem ser descritos da seguinte maneira.

Em seu manual prático e reprodução em equinos, Bettencourt (2018, 51-51), descreve que o ovário tem uma posição que pode variar, se situando na maioria das vezes entre a 4ª e 5ª vértebra lombar. Na égua, o ovário possui uma superfície convexa, que se adere ao mesovário, ali se estabelece a irrigação e a inervação, sendo uma superfície côncava, livre na qual está localizada a fossa de ovulação. O ovário simultaneamente tem uma função endócrina, produção de hormonas, e não endócrina, gametogênese.

Os ovidutos se caracterizam por serem longos tubos com cerca de 20 centímetros, os quais se dividem em istmo, ampola e infundíbulo. O istmo, se liga aos cornos uterinos, a ampola se caracteriza como sendo a porção intermediária, se dando ali a fecundação e as fases iniciais do desenvolvimento do embrião, e o infundíbulo se caracteriza pela região mais próxima dos ovários e tem a função de captar o ovócito ao se dar a ovulação (REGHIM, 2021).

O útero, “encontra-se suspenso na cavidade pélvica e abdominal pelo ligamento largo, e tem uma estrutura tubular em forma de “y””. O útero pode ser dividido em 3 porções que são o corpo uterino, cornos uterinos e cérvix, está localizada na parte cranial da cavidade pélvica, sendo de aproximadamente 5-7 cm, se formando por tecido muscular e conjuntivo, de modo a constituir a terceira barreira anatômica do trato genital. O corpo do útero tem aproximadamente 18-20 cm, se bifurcando nos dois cornos uterinos que tem aproximadamente 20-25 cm, sendo unidos pelo ligamento intercornual (BETTENCOURT, *et al*, 2018).

Bittencourt *et al.* (2018), descreve que a vagina se compõe de uma parte do trato genital que fica localizada dentro da pelve, fazendo uma comunicação cranial com a cérvix e caudalmente com a vulva. Na vagina está localizado o clitóris – estrutura do tecido erétil. O fórnix vaginal, trata-se de um recesso anular que se forma pela união das paredes vaginais, e que é descrito como orifício externo da cérvix.

Por fim, o vestíbulo e a vulva. Em sua descrição Reghim (2021), aponta que o vestíbulo é a parte do trato genital que fica localizado entre a vagina e a genitália externa. A mudança entre vagina e vestíbulo fica demarcada pelo óstio – orifício uretral externo. A vulva se caracteriza como a genitália externa da fêmea, e se forma pelos lábios direito e esquerdo, que se encontram na linha média dorsal.

5 PUBERDADE



A puberdade é alcançada no momento em que o animal tem a capacidade de produzir e liberar gametas viáveis e férteis. Nas fêmeas isso se dá no momento da primeira ovulação, o que na grande maioria das vezes ocorre juntamente com a manifestação do cio. Neste aspecto, aos olhos do criador, a puberdade prematura ou precoce, se considera algo importante, fazendo com que ocorra a introdução desses animais ao grupo produtivo de maneira mais rápida (SILVA, 2020).

Em sua pesquisa, Silva (2020), explica que a puberdade se caracteriza por ser um processo gradual e que tem relação direta com a taxa de crescimento e com o metabolismo energético. O recém-nascido faz uso de suas energias para desempenhar funções vitais, em especial a termorregulação, o que se deve ao fato de terem uma superfície corporal mais elevada se comparada a seu volume. Assim, no período de desenvolvimento subsequente dos tecidos existe também a preferência da utilização de nutrientes, os quais na fase inicial devem favorecer o desenvolvimento dos tecidos ósseos e musculares, ao passo em que estes venham a atingir um certo tamanho, em conformidade com a situação genética do animal, tendo início então o desenvolvimento do tecido adiposo, o que vem indicar um novo reservatório de energia. Vale a ressalva, no sentido de que ocorre uma relação entre a genética e o meio ambiente, de maneira que o potencial genético só aparecerá se o meio ambiente for favorável para que ocorra.

Estímulos autócrinos e parácrinos implicam na sensibilização do eixo porta hipotalâmico-hipofisário. Prévia a puberdade, uma exacerbada sensibilidade a hormônios esteroides sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário leva a falha na atividade secretora de gonadotrofinas, impedindo que haja estímulo suficiente para o crescimento, divergência e maturação folicular. Durante o período pré-púbere, os níveis de estrógeno (E2) circulantes, proveniente dos folículos, suprime a secreção de GnRH, o qual realiza o efeito inibitório (feedback negativo) sobre a liberação episódica de LH, mantendo sua concentração sérica em baixa frequência. Cerca de 50

dias que antecedem o estro púbere, dá-se a diminuição do feedback negativo do E2 no hipotálamo, aumentando a frequência dos pulsos de GnRH/LH, sendo esta condição necessária para que ocorra a ovulação de um folículo dominante (FD). No entanto, entre a primeira ovulação e a puberdade existe uma assincronia, que leva a ocorrência de ciclos estrais curtos e ovulações silenciosas (PINTO, 2018, p. 15).

Desta forma, “a égua atinge a puberdade em média com 14 a 18 meses de idade, dando início a atividade reprodutiva por meio da manifestação do primeiro estro clínico, acompanhado de ovulação” (MAIA; OLIVEIRA, 2019, p. 113).

A forma como o animal é nutrido é capaz de afetar diretamente o seu desempenho reprodutivo, ao passo que potras que não recebem uma boa alimentação, acabam por consequência se tornando mais atrasadas, ao se fazer um comparativo aquelas que receberam uma alimentação de melhor qualidade, apresentando uma forte tendência a iniciar a puberdade de maneira mais precoce, podendo ser em alguns casos aos 12 meses de idade. Ao chegar à puberdade, a primeira cobertura dessa égua só pode ocorrer, ao ser examinada e se comprovar que ela está fisicamente apta, por volta dos 24 aos 36 meses de idade. Tempo em que seus hormônios se equilibram e percebeu-se um desenvolvimento físico capaz de manter a gestação (MAIA; OLIVEIRA, 2019).

Assim, a puberdade pode se manifestar nos animais através de três formas. Podendo ser tardia, quando o animal demora mais tempo a se mostrar apto a reprodução; a precoce, quando o animal entra na vida reprodutiva muito antes daquilo que normalmente se espera ou mesmo no período normal, onde o animal apresenta-se em boa conformação com a sua idade. Entretanto, existem fatores que podem interferir no aparecimento da puberdade, como, a genética, a idade e o peso, a nutrição, o fotoperíodo e o manejo adotado por cada criador (SILVA, 2020).

Porém, Pinto (2018, p.16), observa que, o status nutricional assim como a escolha genética são características de grande importância para que o ciclo estral tenha um desenvolvimento normal. De modo que, a maturação do sistema reprodutivo sofre influência através de sinais hormonais metabólicos. Assim, eles “modulam a ação de neuropeptídeos hipotalâmicos na seleção de GnRH, e o aumento de concentração sérica de progesterona”. Somando-se a isso, o início da puberdade também passa pela influência da seleção que ocorre pelas características de reprodução.

6 FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL DA FÊMEA EQUINA



A escolha do momento certo para que ocorra a cobertura nos equídeos é um momento de grande importância, podendo reduzir o número e saltos por concepção. Assim, as éguas são cobertas ou inseminadas ao se identificar o cio, de maneira geral a técnica se realiza ao chegar o terceiro dia do cio, havendo repetições a cada dois dias até que este termine (OLIVEIRA, 2015).

Em sua pesquisa Pimentel (2014, p.70), observa que a égua se caracteriza por ser um animal “poliétrico estacional”, em que a duração de seu ciclo estral varia entre 20 e 21 dias, onde em um mesmo período especificamente, pode haver o surgimento de mais de um ciclo estral. O fotoperíodo, que sofre regulação pela quantidade de luz, é o instrumento regulador de sua atividade reprodutiva, além de fatores nutricionais e climáticos.

Desta forma, o ciclo estral tem sua definição por meio de alterações sequenciais anatômicas e endócrinas, as quais fazem a preparação da fêmea para o período de ovulação. Este período na égua pode se dividir em estro ou fase folicular e diestro ou fase luteal. A duração da fase folicular pode durar em média 7 dias, enquanto a fase luteal pode ter uma média de 15 dias. No período do estro a égua está sexualmente receptiva ao garanhão. Este é o período em que o folículo dominante tem seu desenvolvimento, secretam estrógeno, o qual faz a indução do comportamento de estro. No período de 24 a 48 horas da receptividade sexual se tem o processo de ovulação (PIMENTEL, 2014).

Assim, no período de mudança, desde o anestro de inverno, até a estação de monta, o ciclo estral pode ter uma variação individual para cada animal. Podendo surgir mais prolongado no começo da primavera, de duração mais curta no solstício de verão e ser mais prolongado no outono (TESKE, 2017).

Entretanto, a atividade de reprodução da fêmea, de modo geral sofre o controle do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. De modo que, “o hipotálamo é

responsável pela secreção do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH), o qual atua na hipófise anterior estimulando a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH)”. Desta maneira, os hormônios hipofisários passam a agir nos ovários para controlar a dinâmica folicular. Já o FSH age no sentido de fazer com que os folículos ovarianos através de estímulos se desenvolvam, e por meio destas ligações às células da granulosa, como também a ativação das vias de síntese de estrógeno (REGHIM, 2021, p. 14-15).

Assim, a ação do Hormônio Luteinizante (LH), depende do estágio em que se dá o desenvolvimento folicular. No período desse crescimento, o referido hormônio passa a atuar nas células da teca, oferecendo o suporte para a esteroidogênese assim como ao crescimento folicular, na medida em que, depois da ovulação passará a atuar no corpo hemorrágico que se forma no ovário, para que possa estimular a produção de progesterona, assim como a formação do corpo lúteo (REGHIM, 2021).

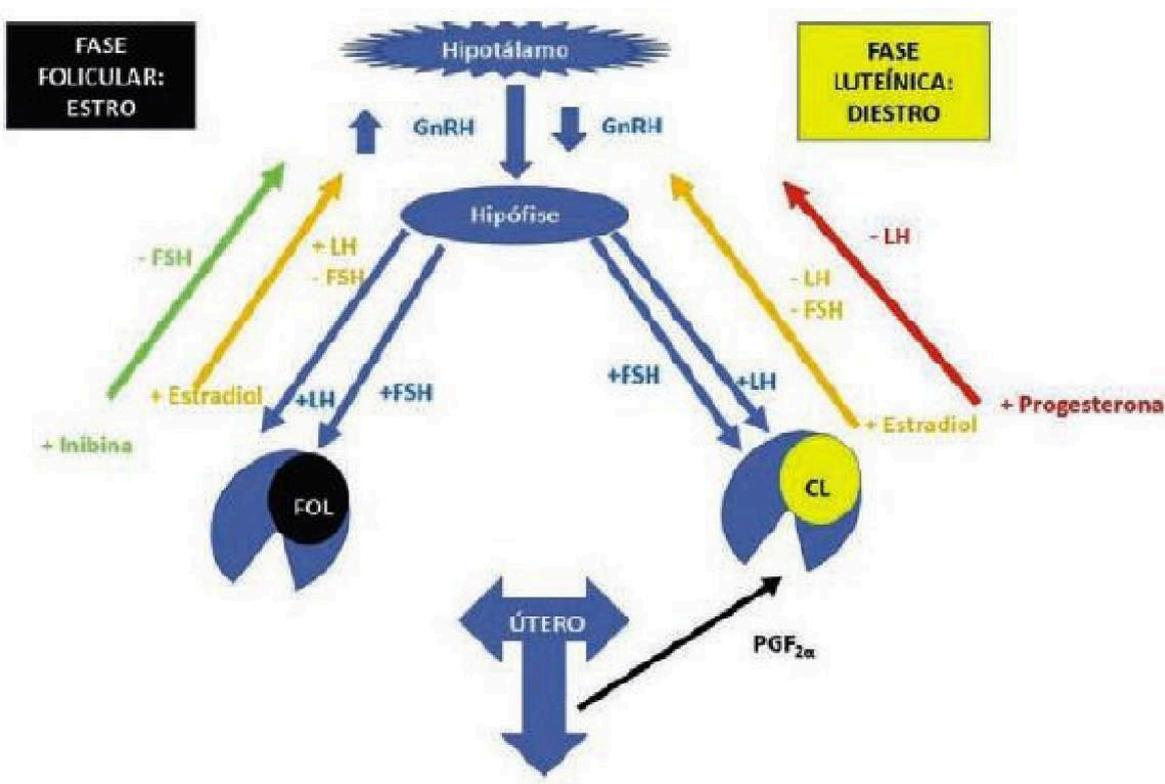


Figura 2: Representação do hormônio em relação a atividade uterina e ovariana.
Fonte: Bittencourt *et al.* 2018, p. 54.

Desta forma, Reghim (2021), descreve que a progesterona, por ser um hormônio esteroide que tem sua produção através do corpo lúteo, e que inibe a secreção de LH, que ocorre através da inibição da secreção de GnRH em níveis hipotalâmico, ou mesmo inibindo de maneira direta através da hipófise, bloqueia a formação de receptores de GnRH nos gonadotrofos. Tudo isso, faz com que haja uma redução nos pulsos de LH, de maneira a manter níveis basais para que se formem e se mantenham os CL.

De maneira que Intervet (2007), observa:

Durante o ciclo estral, a concentração de FSH sobe duas vezes. O primeiro aumento ocorre do dia 8 ao dia 14 do ciclo e o segundo do dia 15 até o dia 2 do ciclo seguinte. As éguas têm dois tipos de ondas foliculares: ondas maiores, com um folículo dominante e folículos subordinados, e ondas menores, em que o maior folículo não chega a ter o diâmetro de um folículo dominante. Os padrões de ondas foliculares observados durante o ciclo estral variam de forma significativa entre as raças (INTERVET, 2007, p. 126).

Sobre as secreções de LH, Bettencourt *et al.* (2018), aponta que mais de 80% dos pulsos de LH, vem acompanhados de FSH, o que tende a estimular o recrutamento e crescimento folicular, a multiplicação das células da granulosa e ainda o aumento de receptores de LH. Assim, fica evidente que o LH será responsável por diversas atividades desempenhadas pelo ovário, como a maturação folicular, a produção de estrogênios, a ovulação e a luteinização como demonstra a figura 2.

A maior concentração de estradiol, produzidos pelo folículos em crescimento, juntamente com a baixa concentração de progesterona, é o responsável pelo comportamento de estro (cio), de modo a fazer com que a égua seja aceita pelo macho, ou seja, a receptividade sexual, o abaixamento da garupa, o levantamento da cauda, e a micção frequente, ocorrendo a movimentação do clitóris e a eversão vulvar (BETTENCURT, *et al.*, 2018).

7 HORMÔNIOS E CONTROLE ENDÓCRINO



Inicialmente, é importante traçar o que ensina Silva (2020, p.2-3), quando aponta que, “a endocrinologia é a ciência que se encarrega do estudo dos hormônios e seus efeitos”. Em linhas tradicionais é possível afirmar que os hormônios são entendidos como “substâncias secretadas em direção a circulação pelas glândulas especializadas, e que exercem uma função sobre um órgão branco”. Porém, tal definição, se caracteriza como algo limitado e sem a devida precisão. De forma que se busca uma maior assertiva, considerando que os hormônios não se produzem em qualquer célula da glândula, devendo sua produção ser apenas em células específicas.

Assim, pode citar-se o exemplo do hormônio luteinizante (LH), o qual tem sua produção através dos gonadotrofos da adenohipófise, não sendo possível sua produção por outro tipo de célula hipofisária. Do mesmo modo que fazer menção a um órgão branco, não é a expressão correta, levando em conta que os hormônios agem apenas nas células que tenha receptores específicos para esses hormônios, e não células do mesmo órgão, então, fazer referência a uma célula branca, se mostra mais adequado, que citar órgão branco. “As células brancas do LH no testículo são as células de Leydig e as células brancas do hormônio folículo estimulante (FSH) no mesmo órgão são as células de Sertoli” (SILVA, 2020. p. 3).

Os hormônios FSH e o LH, os quais são produzidos na hipófise anterior, se classificam como hormônios glicoproteicos, one o primeiro tem a função de fazer com que ocorra o crescimento dos folículos e fazer também o controle da síntese de estrógenos, trabalhando na granulosa. Enquanto o segundo tem participação da síntese dos estrogênios, tendo uma função primária de “estimulação, maturação e

evolução do folículo antral, e de modo secundário na formação e manutenção da CL” (PIMENTEL, 2014, p. 71).

Em sua pesquisa Pimentel (2014), ainda descreve que, o FSH, é o hormônio responsável pelo desenvolvimento dos folículos ovarianos. Sendo de liberação bifásica, chega a apresentar níveis de maior elevação do nono ao décimo segundo dia próximos à ovulação. De maneira que o pico da ovulação se dá dois dias antes dessa, no período em que o estradiol produzido pelo folículo dominante tem sua diminuição, o que possibilita que se complete o desenvolvimento final do folículo pré-ovulatório, dando início ao desenvolvimento de novos folículos. Ainda, a diminuição dos níveis de FSH se dá com o aumento do hormônio inibina, que tem sua produção através dos folículos maiores que 13 mm.

Assim, em razão de tudo que foi dito, tem-se como definição mais adequada para hormônio a seguinte aceção, “os hormônios são reguladores biológicos, produzidos e secretados em quantidades pequenas pelas células vivas, que depois de viajar pelo meio extracelular atuam sobre as células brancas, onde exercem uma ação específica” (SILVA, 2020, p. 3).

O controle endócrino do ciclo estral deve-se ao eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, que é controlado principalmente pelo fotoperíodo, além da influência nutricional, temperatura, ambiente, condição corporal, idade e raça do animal. A duração do período de luminosidade dos dias influencia inversamente a produção de melatonina, que controla a atividade do eixo hipotalâmico – hipofisário – gonadal. A melatonina tem efeito inibidor na produção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), estimulante da produção de dois hormônios que atuam nos ovários – hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH) (PIMENTEL, 2014, p. 71).

Dito isto, é possível trazer o que relata Pimentel (2014), ao observar que, os hormônios mais importantes esteroides são os progestágenos e estrógenos. Assim, a P₄, tem sua produção pela CL, placenta e córtex adrenal, e sua secreção sofre o controle do LH no animal que não está prenha, o que faz com que ocorra o crescimento de glândulas endometriais do útero, o que estimula a atividade secretora do oviduto. Assim, sendo evitada a contração uterina no período de gestação e finalmente, sendo regulada a secreção de gonadotrofinas. Daí, os

estrógenos têm como local de produção o ovário, unidade feto placentária e o córtex adrenal, os quais são representados pelo estradiol-17 β , estriol e estrona.

8 DINÂMICA FOLICULAR

O ovário se caracteriza como um órgão de armazenagem dos ovócitos, os quais se formam no período da vida fetal, ou logo depois do nascimento, ficando estes ocultos, imaturos, com suas atividades paralisadas, não se desenvolvendo nem crescendo, até que ocorra o processo de mitose, onde as células germinativas ou ovogônias passam a evoluir, se tornando ovócitos primários. Os ovócitos então, devem estar rodeados por células foliculares a fim de que seja alcançada sua maturação, seguindo-se da ovulação, o que vem a constituir os folículos. Estes, estão localizados no parênquima ovariano, passando por uma série de modificações evolutivas que os transforma de folículos primordiais, “constituídos por um ovócito rodeado de células planas”, para folículos maduros ou de Graaf, onde deverão atravessar o estágio primário, secundário e terciário (SILVA, 2020).

Em seu estudo Gurgel, *et al.* (2008), descreve que a dinâmica folicular, trata-se de um processo constante, de crescimento e regressão dos folículos, que acontece dentro dos ovários das éguas, sofrendo este influencia direta por fatores extrínsecos, como a nutrição, a temperatura a que estes animais estão expostos, os estresses por eles vivenciados e o fotoperíodo.

Em sua descrição Gurgel, *et al.* (2008), indica que em conformidade com o fotoperíodo, o ciclo reprodutivo anual pode se dividir em duas estações, anovulatória e ovulatória. A estação anovulatória se compõe por 3 períodos, os quais indicam a transição do outono, sendo este o anestro profundo, o qual pode ser mais observado

em regiões de clima temperado, como também na transição da primavera, sendo estes marcados por uma pequena concentração sérica de LH, ainda que a concentração de FSH, não apresenta alterações substanciais.

Já na estação ovulatória, esta é marcada pelo processo de seleção folicular, se dando este ao final da fase de crescimento comum na qual o folículo dominante tem seu crescimento através de uma taxa de continuidade, enquanto os folículos subordinados crescem até o período da seleção e depois sofrem uma regressão. Assim, o controle que se dá no desvio folicular tem sua dependência por meio de fatores intrafoliculares, dentre os quais, “fatores de crescimento, peptídeos, receptores de gonadotrofinas, fatores angiogênicos e esteróides”, sendo estes secretados de modo diferenciado nos folículos futuros, os dominantes e subordinados, onde se tem a determinação de efeitos “regulatórios autócrinos, parácrinos e endócrinos” (GURGEL, et al., 2008, p. 122).

A puberdade é o período que dá início a dinâmica de desenvolvimento folicular, que se repete a cada estação reprodutiva. Desta maneira, as fêmeas com estacionalidade reprodutiva marcada apresentam os folículos prontos para serem utilizados ao fim de cada período de anestro, onde estes entram em fase de crescimento até que seja fixada a dominância pelo folículo pré-ovulatório, onde este se torna o dominante para que os demais regressem (MAIA; OLIVEIRA, 2019).

Geralmente, ocorrem duas ondas de desenvolvimento folicular por ciclo estral havendo ovulação do folículo dominante da segunda onda ao atingir 35 a 40mm. A ovulação ocorre no terço final do estro, ou seja, aproximadamente, 24 a 38 horas antes dos sinais de comportamento de cio desaparecerem na égua. O período sucessivo à ovulação é caracterizado pelo metaestro e diestro, com duração média de 13 a 17 dias. Nessa fase o nível de estrógeno reduz enquanto a concentração sérica de progesterona produzida pelo corpo lúteo aumenta progressivamente. Em decorrência disso, a receptividade da égua ao garanhão cessa. Se houver falhas na concepção, no reconhecimento materno da gestação ou morte embrionária, resultará na lise do corpo lúteo por ação da prostaglandina produzida no endométrio, havendo retomada do ciclo estral. Porém, após a cobertura se houver fusão do ovócito com o espermatozoide, configurará em êxito na fecundação, desta forma, o corpo lúteo permanece ativo e a progesterona se mantém a níveis altos contribuindo para manutenção a gestação (MAIA; OLIVEIRA, 2019, p. 115).

Assim, alguns autores entendem que o resultado do escore de condição corporal (ECC), sobre o desenvolvimento do folículo ovulatório aponta que éguas em condições inferiores corporalmente apresentam um diâmetro do folículo pré-ovulatório bem menor, ao se comparar com as éguas em boas condições corporais. O que significa que os fatores entendidos como influenciáveis acabam afetando diretamente o desenvolvimento dos folículos em sua dinâmica de atuação.

9 SELEÇÃO DAS FÊMEAS PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Alguns fatores se classificam como essenciais para que a técnica da inseminação seja bem sucedida. Entretanto, a seleção da fêmea receptora é tida como um dos pontos mais importantes, se não o mais importante deles. De maneira que uma boa escolha, que respeite os critérios de seleção tem uma importante influência no bom resultado da transferência de embrião, o que faz com que a taxa de prenhez possa ser elevada e diminuída da taxa de perda de embriões (ALONSO, 2008).

Alguns critérios de seleção podem ser descritos como: nutrição, condição corporal apropriada, idade entre 3 e 10 anos, boa disposição, a fim de que sejam facilitados o manejo da égua e do potro, desenvolvimento mamário correto (SQUIRES *et al.*, 1999), ciclos estrais normais e características uterinas e ovarianas em boas condições (VANDERWALL; WOODS, 2007). Também se classificam como critérios de seleção a não alteração músculo esquelética, a boa saúde ocular e dentária (HARTMAN, 2011). Resumindo, a receptora precisa apresentar uma saúde reprodutiva em bom estado, em alguns casos melhor que a da doadora, não podendo ser jamais uma égua de descarte.

Na transferência de embrião, tanto a doadora quanto a receptora, precisam estar em sincronia, a fim de que o embrião saia de um ambiente uterino para o outro no mesmo período do ciclo, o diestro (MOREL, 2003).

Para que este ambiente seja o mais adequado possível, é preciso que seja feita uma sincronização correta e precisa entre o doador e a receptora, o que nem sempre é possível de se alcançar. De maneira que se torna importante que existam no mínimo duas receptoras para cada égua doadora, a fim de que seja possível fazer a escolha daquele que se apresenta como o melhor é a mais próximo ambiente uterino para receber o embrião no instante em que será realizada a transferência (MCKINNON; SQUIRES, 2007).

O grupo das receptoras deve se formar antes que ocorra o início da temporada, não sendo recomendado que sejam introduzidos novos indivíduos. Isto em razão de que os equinos são grupos de animais que formam hierarquias em seus grupos. Assim, ao serem inseridos novos indivíduos, essa hierarquia precisa ser refeita, causando um grande estresse para o grupo. Por esta razão também recomenda-se que seja evitada a mudança na rotina em meio às éguas receptoras.

Existe ainda a questão sanitária, sendo possível que sejam introduzidas novas doenças. De maneira que, havendo a necessidade de que sejam introduzidas novas receptoras no programa de transferência de embrião, é preciso que estas fiquem em um período de quarentena, a fim de que não sejam colocados em risco os demais animais do grupo, precisando que aconteça um manejo sanitário adequado, um controle de endoparasitas, ectoparasitas e vacinação. É preciso que as receptoras tenham uma sanidade, que não apresentem qualquer tipo de doença infectocontagiosa (LOSINO; ALVARENGA, 2006).

Outro fator que atrapalha o desempenho reprodutivo é a idade, isso por ser um ponto que causa uma predisposição na degeneração do endométrio, causando uma dificuldade em ser mantida a gestação (RICKETTS; ALONSO, 1991). Ademais, as éguas em idade mais avançada, tendem a apresentar um maior índice de perda gestacional (BARBACINI, *et al.*, 1999). Assim, quanto mais idade tiver a receptora, sua permanência no plantel será menor, sendo seu custo inicial menos dissolvido no decorrer dos anos (LOSINO; ALVARENGA, 2006). Contudo, ainda que éguas mais novas apresentam boas taxas de prenhez, estas podem não demonstrar um bom desempenho materno, tornando-se um problema, passando a ser um problema no parto e nos cuidados com o potro. Por tais razões, a aquisição de receptoras que já tenham tido 1 ou 2 gestações e que demonstrem aptidão materna identificada, pode ser uma opção bastante interessante. Éguas virgens, que tenham entre 2 e 4 anos,

que nunca emprenharam, tinham indicação como melhores opções de receptoras, sendo consideradas de maior fertilidade. Entretanto, pesquisas apontaram que elas apresentam menores potros de menores pesos ao nascer, ao se fazer uma comparação com éguas adultas e pluríparas (ALLEN, 1994). Juntamente com este fato, as potras apresentam ciclos erráticos com mais constância, não sendo ainda fácil de controlar, por sua indisciplina. De modo que, o uso de potrancas não é algo que se recomenda (LOSINO; ALVARENGA, 2006).

Naquilo que diz respeito ao tamanho e porte físico, a indicação é de que tanto a doadora quanto a receptora sejam semelhantes, ou a receptora tenha um maior porte, considerando que o útero da égua tem direta relação com seu tamanho natural (LOSINO; ALVARENGA, 2006). Assim, tanto o excesso de espaço uterino, quanto a sua falta, podem ser prejudiciais ao potro, fazendo com que ele tenha um tamanho aumentado ou reduzido respectivamente (ALLEN, *et al.*, 2002). Ainda não se indica que sejam usadas receptoras de raças pesadas para a reprodução de embriões de raças média e leves, considerando que essas receptoras produzem uma quantidade de leite muito grande, o que pode ocasionar problemas no crescimento, além de fazer com que o potro nasça acima do peso desejado para sua espécie (LOSINO; ALVARENGA, 2006).

A condição corporal da égua pode causar influência em sua reprodução. Podendo influenciar no início da estação reprodutiva, intervir no tempo de duração do ciclo estral, na taxa de concepção, no intervalo entre os partos e na absorção embrionária. De maneira que, quando as éguas iniciam a temporada de monta com o escore corporal em boas condições, alcançam taxas de concepção maiores. Enquanto as éguas com escore corporal ruim, apresentam intervalo entre os partos de maior tempo e requerem uma quantidade maior de ciclos para emprenharem. Éguas que recebem uma alimentação de qualidade e adequadas no período da lactação ou que tem restrição no período gestacional, mas com alimentação e qualidade na lactação, demonstram índices de concepção superiores e uma menor taxa de mortalidade embrionária, ao serem comparadas a éguas que tiveram restrição alimentar ao tempo gestação e lactação. Ao se ar a restrição no período da lactação, elas usam sua reserva corporal a fim de compensarem os efeitos negativos, o que pode fazer com que o embrião não sobreviva (HENNEKE, *et al.*, 1984). As receptoras que receberam o embrião devem ser colocadas em piquetes

com maior disponibilidade de pastagem e essa de melhor qualidade (RIERA, 2009). Assim, a grande maioria de receptoras são de éguas gestantes ou paridas, em razão do alto valor de manutenção que elas demandam, por isso, devendo ser priorizado o menor intervalo possível entre os partos (LOPES, 2004).

Ao ser a receptora sujeita a estresses como a privação alimentar, alterações climáticas, brigas, diminuição de espaço físico, transporte ou ainda uma condição ocasionada por questões fisiológicas – parição, lactação ou desmame, pode acontecer uma excessiva secreção de cortisol, o que pode causar alteração ou inibição da secreção hormonal reprodutiva (LEITE, 2002). Na visão de Rivier e Rivest (1991), o eixo hipotálamo-hipófise sofre alteração, visto que a secreção desses hormônios em meio a situações de estresse causa uma inibição da secreção de GnRH o que conseqüentemente faz com que não ocorra a secreção de FSH e LH. Assim, por quanto mais situações ela for submetida, haverá mais estresse e mais conseqüências, visto ser a reação ao estresse modulada pela intensidade, duração e frequência do estímulo (LEITE, 2002).

Outra informação importante com relação a receptora diz respeito a seu temperamento. Esta deve ser de trato fácil, visto que além de ensinar o potro o seu comportamento, seu instinto pode oferecer risco aos tratadores, veterinário e mesmo ao embrião, assim como a futuro potro, se for de difícil lida (ALONSO, 2008). Elas devem aceitar com tranquilidade o cabresto (RIERA, 2009), deixando-se ser examinadas por meio de palpação retal e exame ultrassonográfico, e no momento do manejo com o potro, devendo ser de temperamento tranquilo, não impossibilitando o trabalho dos tratadores (LOSINO; ALVARENGA, 2006).

As receptoras, devem ter identificações para eu o manejo seja mais fácil, e para que haja um programa organizado, de modo a se ter um controle de qual égua recebeu qual embrião. De maneira que, é preciso que se tenha todos os cuidados com as receptoras, para que estas estejam aptas ao programa e que consigam desempenhar de maneira total sua capacidade reprodutiva. É preciso que se assegure sua saúde física por meio de um manejo adequado e de boa qualidade, o que requer alimentação correta, água de qualidade, atividade física, espaço físico adequado, ambiente higienizado, ou seja, um tratamento da melhor qualidade.

10 PROTOCOLOS HORMONAIIS PARA SINCRONIZAÇÃO

Os pioneiros em aplicação de P4 ou altrenogest – progestágenos, para o preparo em éguas receptoras ovariectomizadas. Onde houve a administração de 300 mg diários e P4 durante 5 dias antecedendo a TE, o que acabou resultando em 75% da taxa gestacional. O que o estudo acabou por demonstrar foi que, as éguas ovariectomizadas e que recebem tratamento com altrenogest P4 conseguem manter a prenhez após se dar a transferência do embrião (HINRICHS, *et al.*, 1985; 1986).

Em seguida Hinrichs *et al.* (1986), conseguiram 16% (1/6), 33% (2/6) e 40% (2/5) de prenhez, a fazer um comparativo entre dois protocolos que faziam o uso de altrenogest oral - 22 mg diários por cinco dias ou 66 mg diários por seis dias antes da TE, através do protocolo que usava 300 mg diários de P4. Assim, chegando os autores a conclusão de que o altrenogest oral, conseguiu manter a gestação após a TE, mesmo sendo observada uma insuficiência na dosagem de 22 mg, para que se alcançasse taxas de prenhez condizentes.

Também foi observada por Hinrichs *et al.* (1986) a necessidade de que houvesse a sincronização entre a administração de P4 na égua receptora e ovulação da égua doadora; identificando-se que nas receptoras nas quais o tratamento hormonal teve início dois dias após a ovulação da doadora, as taxas de gestação se mostraram acima em comparação as éguas em que o início do tratamento hormonal aconteceu ao menos quatro dias antes da ovulação da doadora, indicando com isto a necessidade de sincronia.

Passou-se então a compreender que o estrógeno estimula o aumento dos receptores uterinos de P4 e que o embrião equino secreta estradiol no período inicial da gestação (ZAVY *et al.*, 1979). Desse modo, McKinnon *et al.* (1988) fizeram uso de estradiol de maneira prévia e conjuntamente à administração de progesterona ou altrenogest em três diferentes protocolos, assim descritos: no primeiro protocolo, se deu a administração de três a cinco dias de 17 β -estradiol (E2) na sequência sendo administrado 300 mg de P4 diários após o período da ovulação da doadora. O segundo protocolo foi semelhante ao primeiro, contudo, a aplicação do E2 foi sequencialmente após a administração da P4. O terceiro tratamento também foi semelhante ao primeiro, exceto com a substituição da P4 por 0,044mg/kg de altrenogest diários (MCKINNON *et al.*, 1988).

No referido procedimento, os autores alcançaram 70% e 80% e alcance na taxa de gestação, de maneira respectiva nos protocolos testados, e modo a sugerir que independente da administração do E2, a exigência primária para que seja preparada e mantida a gestação ocorre pela concentração correta de progesterona ou progestágenos (MCKINNON, *et al.* 1988).

A partir dos anos de 1990, as receptoras intactas acíclicas (anestro ou transição) passaram a fazer parte dos programas de TE. A utilização desta camada de receptoras dispensa o uso cirúrgico, passando a ser uma opção vantajosa. Desta maneira, compreende-se que éguas ovariectomizadas assim como em anestro podem ser aproveitadas com sucesso como receptoras de embriões (LAGNEAUX; PALMER, 1993; SOUZA, 2013). McKinnon *et al.* (2000) realizaram avaliações em diferentes progestágenos disponíveis comercialmente no sentido de estimar a produtividade destes em conservar a gestação em éguas depois de induzir a luteólise do corpo lúteo aos 18 dias de prenhez. Alguns hormônios, como a medroxiprogesterona, hidroxiprogesterona, altrenogest, norgestomet e megestrol foram usados como teste, e apenas o altrenogest demonstrou eficiência em manter a gestação.

Ainda, uma preparação de progesterona de longa ação (P4 LA) foi analisada por Bringel *et al.* (2003) em éguas que não apresentavam o corpo lúteo primário, nas quais concentrações de P4 alinhadas com a fase luteal foram identificadas após a administração de 1500 mg a cada sete dias.

Em estudo comparativo, Rocha-Filho et al. (2004) realizados entre as taxas de gestação em receptoras cíclicas - grupo controle, e acíclicas suplementadas com dois protocolos diferentes (P4 de longa ação e P4 de curta ação). Os resultados apontam que não ocorreram diferenças importantes, indicando que ambos os tipos de P4 são eficientes para o preparo de receptoras acíclicas. Também não foi identificada considerável diferença na taxa de gestação entre as éguas cíclicas (75,0%) e éguas acíclicas dos grupos tratadas com P4 (75,9%), apontando sucesso no protocolo usado e confirmando os achados de Bringel et al (2003), que descrevem a concentração circulante de P4 compatível com os níveis da fase lútea (3,41 a 4,33 ng/mL), na sequência a aplicação de 1500mg de P4 de longa ação (LA) a cada 7 dias em éguas com nenhuma fonte endógena de P4.

11 DESCRIÇÃO DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A recuperação embrionária se dá por volta do 7º ou 8º dia depois da ovulação, onde as taxas de recuperação são maiores do 6º ao 9º dia em razão do tamanho do embrião, e pelo manejo da lavagem uterina, pelo fato de que depois do 9º dia o embrião já alcançou um tamanho adequado para receber algum tipo de dano no decorrer da manipulação. O embrião equino tem um crescimento de 200, 400 e 800 mm de diâmetro lá pelo 6, 7 e 8 dias respectivamente. O embrião é recuperado através de lavagem uterina transcervical, sendo utilizado 1 litro de fluido para cada lavagem. O processo se dá durante 3 a 4 vezes. Assim, a taxa de recuperação embrionária, depende ainda da formação embrionária, e do técnico que vai realizá-la (HINRICHS, 2013).

A colheita no modo transcervical ocorre através de um cateter de silicone com um balão - VEUF-80, Bivona, Inc, Gary, IN 46406, de 8,0 mm de diâmetro e três vias, sendo este inserido na cérvix. Depois que o cateter alcança o útero, é preciso que o balão acoplado (cuff), seja inflado, para que não aconteça a perda de líquido, como também para que o cateter não saia da posição. De maneira que, ao estar o cateter na posição devida, o líquido é inserido no útero, uma solução salina que contém fosfato puro modificado (DPBS), já devidamente aquecido de 30 a 35°, a 1%

de soro fetal bovino, penicilina (100 unidade/ml), e estreptomicina (100µg/ml), sendo o órgão lavado de 3 a 4 vezes.

Uma opção para a utilização da citação anterior, é o Ringer Lactato. Pesquisas fazendo um comparativo entre a lavagem uterina através desses dois meios, apontando uma semelhança entre as taxas de concentração, onde o Ringer Lactato apresentou 64%, ao ser comparado com o DPBS que apresentou 57% (ALVARENGA, *et al.*, 1992). Ao lavabo no Brasil, faz um uso maior do Ringer, se dando isto por sua fácil preparação como também aquisição.

Ao passo que o líquido vai saindo do útero, o lavado é filtrado, o que visa a tensão do próprio embrião. Assim, depois das lavagens, o líquido passa por uma análise de rastreio através de um microscópio estereoscópio em um aumento de 10X, para que se consiga observar a presença do embrião. Na sequência o embrião é classificado, podendo ser realizado esse processo no mesmo equipamento, porém, com o uso da objetiva de 40X.

Na ideia de tornar mais fácil a localização e o rastreio do embrião, a placa de petri, onde é colocado o líquido, tem o filtro retirado, podendo ser riscada na parte inferior. Na sequência do lavado, aplica-se uma dose de PGF2a na égua, a fim de que sejam estimuladas contrações uterinas no animal, a fim de que haja a expulsão do fluido que pode ter ficado dentro da fêmea, e ainda para que haja Lise do corpo lúteo.

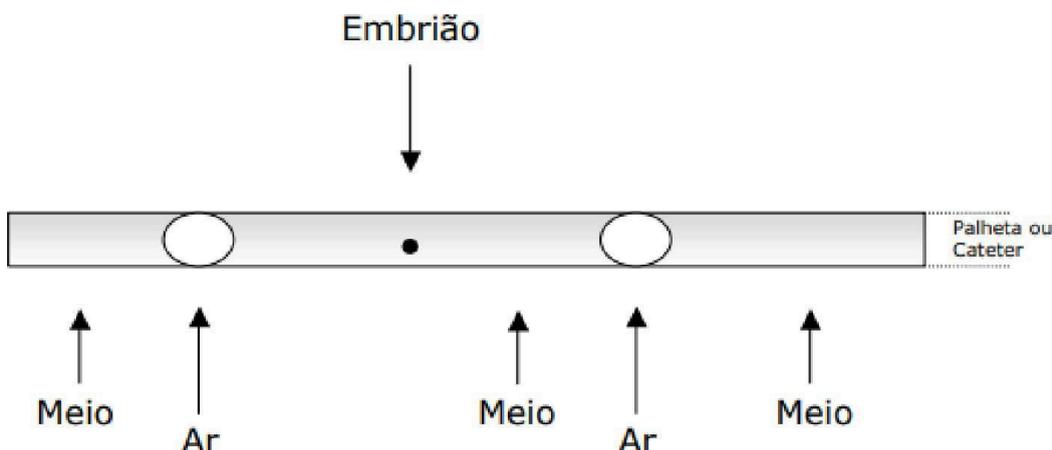
A morfologia do embrião ajuda a que haja uma boa classificação destes, onde se tem como base: forma, tamanho, uniformidade, extrusões e degeneração de blastômeros. É muito importante esse momento da classificação, visto a qualidade do embrião ser consequência de uma boa taxa de prenhez mais adiante (FUTINO, 2005). Quando se possui um bom equipamento de trabalho, se torna bem mais fácil fazer uma análise mais profunda, ao se ter um equipamento de menor qualidade, tem-se de fazer o máximo de análise para se alcançar uma avaliação o mais precisa possível. Os embriões que forem classificados são então preparados para que se dê a TE.

De início os embriões serão colocados em uma placa de petri menor (35 X 10 mm), devendo conter o meio de manutenção, que deve ser uma palheta de 0,5 ou 0,25 mL, que deve estar acoplada a uma seringa de insulina. A necessidade de que

o embrião passe por esse meio, é a busca pela eliminação de impurezas anteriormente a aspiração do embrião na palheta de inovulação.

Para o processo de inovulação de verdade, o embrião fica envasado em um cateter, onde se preparam porções alternadas de meio de manutenção e ar, na busca para que seja mantido o embrião no centro do cateter. Desta forma, primeiro é aspirado o meio de manutenção, na sequência tendo-se a aspiração de ar, e outra vez meio, para após se ter a aspiração do embrião (LIRA; PEIXOTO; SILVA, 2009). O processo se repete até que o cateter seja completamente preenchido. Depois de envasado o embrião será transferido para a receptora (LIRA; PEIXOTO; SILVA, 2009).

Figura 3: Embrião envasado no cateter



Fonte: Lira Peixoto; Silva, 2009.

O processo de depósito do embrião no útero da receptora se dá da mesma maneira que a IA tradicional. Estando o médico veterinário ciente de que está realizando o procedimento da receptora, é natural a absorção de embriões anteriormente a 60 dias, se dando aplicação de progesterona na receptora, a fim de que seja aumentado o nível de progesterona que o ovário produz, auxiliando na melhoria da taxa de confirmação.

11.1 Inseminação Artificial e sêmen fresco e refrigerado

O sêmen fresco pode ser usado de maneira “*in natura*” ou mesmo diluído. As doses aprovadas para a realização da IA com o sêmen fresco nas éguas de 250 d 500 x 10⁶ espermatozóides de motilidade progressiva por dose, a fim de que sejam alcançados números satisfatórios de prenhez, onde é a dose de 50 x 10⁶ espermatozóides a mais indicada (BRINSKO, 2006).

A Inseminação Artificial com sêmen equino refrigerado é bem difundida em meio aos haras, visto oportunizar o uso de garanhões geneticamente superiores, alinhando os acasalamentos de uma melhor forma. O alcance de boas taxas de prenhez, variam entre a frequência e o tempo da IA controlados, assim como, de condições que envolvem a refrigeração do sêmen, como o equipamento que se utiliza para realizar o transporte, curva de refrigeração, temperatura final de estocagem, tempo de preservação, taxa de diluição, concentração e volume da dose inseminante e a variação entre os garanhões (NUNES, *et al*, 2006).

Não se tem uma diferença tão considerável na realização da IA em éguas com o sêmen “*in natura*”, e o sêmen diluído logo após a colheita, apesar de que, o sêmen *in natura* tem uma maior utilização em razão e seu baixo custo e de sua eficácia comprovada, se verificando um gasto a menos com o diluidor, sendo considerado desvantagem pelo fato de não manter a qualidade espermática (KENNEY, *et al.*, 1975).

A diluição do sêmen se dá no objetivo de potencializar o uso do garanhão, fazendo uso de volume menor e concentração mais elevada, ainda dando maiores condições para seu resfriamento e conservação para viagens mais distante, assegurando a bom trânsito espermático (PICKET, *et al.* 1975). No entendimento de Heiskanem *et al.* (1994), existe a possibilidade de se manter o sêmen de um garanhão aproveitável por um período de tempo maior que 80 horas, ao se fazer a diluição logo depois da coleta, se mantido em temperatura constante de 37°, até o

instante de sua utilização, mas a IA deve acontecer em no máximo 12 horas depois da ovulação.

Para se alcançar uma boa conservação do sêmen por um tempo prolongado, é importante que se evite aglutinação espermática, diminuindo as influências de alteração do pH seminal (KENNEY, *et al.*, 1975). A temperatura padrão para o resfriamento do sêmen é de 5°C ou de 15 a 220°C, sendo possível o transporte e utilização do sêmen durante o tempo de 1 a 48 horas (SQUIES, *et al.*, 1999). Desta forma, ressalta-se a importância da diminuição da temperatura do sêmen, considerando que isto o conserva por um período de tempo maior, reduzindo o crescimento bacteriano, diminuindo o metabolismo espermático, e ainda provocando uma redução de oxigênio, de maneira a induzir que haja um favorecimento ao metabolismo espermático em detrimento do aeróbico (KATILA, *et al.*, 1997; SQUIES, *et al.*, 1999).

11.2 Inseminação Artificial em sêmen congelado

Em suas pesquisas Deals (2003), considera a reação inflamatória uterina agravada, depois da IA realizada com sêmen congelado. Isto em razão de que, estudos indicaram que o plasma seminal, que é retirado no período da criopreservação, causa uma interdição uterina da reação inflamatória depois da cobertura, o que ocasiona ao útero um efeito imunossupressor.

A Inseminação Artificial através de sêmen congelado, ainda apresenta pontos técnicos a serem discutidos e investigados, dentre os quais a variação individual de cada sêmen diante da criopreservação, o baixo alcance de doses por ejaculado, o controle intenso das éguas no período das inseminações, a maior despesa por prenhez, e mais a grande variação das taxas de prenhez comparadas às alcançadas com monta natural (MN), ou mesmo a IA através de sêmen fresco ou mesmo refrigerado (NUNES, *et al.*, 2006).

A avaliação do sêmen coletado é mais importante quando o congelamento é o destino do sêmen que foi coletado. Isto em razão de que a mortalidade pode ficar em torno de 70%, ou mais, sendo o mínimo de mortalidade de 60%, sendo apresentadas células espermáticas um vigor mais adequado de no mínimo 4 de vigor, com evidente motilidade progressiva. Assim, a concentração mínima que se

indica que o congelamento é de 60×10^6 espermatozóides por ml (ANDRADE, 1983).

A possibilidade espermática reduz em conformidade com o tempo de armazenamento, variando o efeito prejudicial do armazenamento de acordo com o ganhão. Para que seja determinada a dose mínima, que cada sêmen pode alcançar em sua variação individual, é preciso que seja testada, para que consiga alcançar índices desejáveis de prenhez. Isto possibilita uma utilização mais eficaz de sêmen para ganhões com motilidade progressiva que reduz depois do congelamento, armazenamento e descongelamento, até menor que 30% de motilidade, de modo que é preciso que haja um aumento no número de palhetas utilizadas por inseminação (BRINSKO, 2006).

A dosagem de inseminação de se indica ao se usar sêmen congelado de ganhões que tem uma fertilidade normal e de 800×10^6 espermatozóides com motilidade progressiva, a ainda que utilizando um grande número de espermatozóides a taxa de concepção por meio de sêmen congelado pode oscilar entre 30 e 70% (CARD, 2010).

O sêmen congelado, possui menor expectativa depois do congelamento, em razão de lesões causadas na membrana dos espermatozóides, resultantes do estresse térmico, químico e osmótico. Entretanto, se trata de um método que condiciona a manutenção do material genético daqueles animais de grande valor por um maior período de tempo (OHASHI, 2002; SILVA *et al.*, 2002).

12 CONSIDERAÇÕES FINAIS



Como visto na realização desta pesquisa, a Inseminação Artificial surgiu de um processo de necessidade de um criador em melhorar geneticamente seu plantel, onde inicialmente não se tinha critérios específicos para a realização do processo, que ao longo dos tempos foi sendo aperfeiçoada, chegando-se então, ao que hoje pode ser entendida como uma forma de criar bons animais.

Todo este processo como se viu, ocorre na busca por animais selecionados e com características específicas alcançadas através de melhoramento, onde se tem um macho ganhão de altíssimo nível e que doa seu sêmen a uma fêmea que necessariamente deve trazer em sua linhagem também uma série de qualidades que são essenciais para que se alcance na reprodução um animal, saudável, de porte adequado às necessidades a que se destina, forte e descendente de grandes reprodutores.

Como visto, o processo de IA, demanda cuidados específicos e que serão de grande importância para que se consiga alcançar o objetivo final na reprodução animal, devendo ser cuidadosamente acompanhado por um profissional capacitado e que tenha conhecimento da área. O processo para se alcançar o resultado de sucesso deve iniciar com a escolha da fêmea, devendo conhecer sua anatomia e sua capacidade para a reprodução, através da realização de exames que irão indicar as verdadeiras condições de todo trato reprodutiva dessa égua, sendo preciso saber se a mesma já alcançou a puberdade, ou seja, período onde se tem início os preparos dessa fêmea para se tornar uma boa reprodutora; a partir deste momento se passa a fazer o acompanhamento do ciclo estral dessa futura reprodutora, devendo ser estabelecido um controle hormonal e endócrino; após se entra na fase da dinâmica folicular que deve fazer uma observação cuidadosa dos ovários para o prepará-los para a IA.

Como visto, existem as fêmeas doadoras e as receptoras que precisam ter uma sincronia para que o processo de IA tenha sucesso, não podendo ser feito de qualquer jeito, a qualquer tempo ou sob qualquer circunstância, devendo serem seguidos os protocolos hormonais para que essa sincronização seja perfeita.

A Inseminação Artificial, pode ser feita com o uso de embriões frescos, refrigerados ou congelados como trazido, e dependendo de cada situação haverá uma melhor forma de aproveitamento dos embriões. Entretanto, cada técnica apresenta suas vantagens e desvantagens.

De modo que, aqui se buscou trazer uma descrição de todo esse processo, na expectativa de traçar uma linha do tempo capaz de auxiliar no entendimento de como funciona todo processo de Inseminação Artificial em éguas.

1. ALLEN, W. E. **Fertilidade e Obstetrícia Equina**. Varela, São Paulo. p.143-149, 1994.
2. ALLEN, W. R.; *et al.* Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. **Reproduction**, 2002.
3. ALONSO, M. A. Seleção, manejo e fatores que influenciam as taxas de prenhez em éguas receptoras de embriões. **Acta Scientiae Veterinaria**, Porto Alegre, v. 36, p. s207-s214, 2008. Suplemento 2.
4. ALVARENGA, Marco Antônio *et al.* Some modifications in the technique used to recover equine embryo. **13rd International Symposium on Equine Embryo Transfer**, Buenos Aires, Argentina. 1992.
5. ANDRADE, Lúcio Sergio. **Fisiologia e manejo da reprodução equina**. 2ª ed. Recife: Parque Gráfico da Fábrica de Discos Rozemblit, 1983.
6. BARBACINI, S.; *et al.* Incidence of embryo loss in mares inseminated before and after ovulation. **Equine Veterinary Education**. v.11, p. 251- 254, 1999.
7. BENDER, E.S.C. *et al.* **Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas**. 2014.
8. BITTENCOURT, Elisa Maria Varela, *et al.* **Reprodução em equinos: manual prático**. Universidade de Évora: Évora, 2018. BRAGA, Renata Leandra. **Transferência embrionária em equinos: Método não cirúrgico baseado na técnica ultrassonográfica de injeção ultra uterina**. 2017.
9. BRINGEL, B. A. *et al.* Biorelease progesterone LA 150 and its application to overcome effects of premature luteolysis on progesterone levels in mares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. V. 27, p. 498-500, 2003.]
10. BRINSKO, S. P. **Insemination Doses: how low can we GO?** **Theriogenology**. V. 66. 2006. p. 543-550. 2006.
11. CARD, Claire. **Low Dose Insemination Techniques in Mares**. In: Proceedings of the Pre-Congress of the 16th Italian Association of Equine Veterinarians Congress – SIVE. 2010. Carrara, Italy –. p. 3-11.
12. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Anatomia e Fisiologia do Sistema Reprodutivo dos Animais Domésticos**. Emanuel Isaque Cordeiro da Silva, 2020.
13. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia Clínica do Ciclo Estral de Vacas Leiteiras: Desenvolvimento Folicular, Corpo Lúteo e Etapas do Estro**. 2020.
14. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia da Reprodução Animal: Ovulação, Controle e Sincronização do Cio**. Belo Jardim: IFPE, 2020.
15. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia da Reprodução Animal: Ovulação, Controle e Sincronização do Cio**. 2020.
16. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia da Reprodução de Bovinos Leiteiros: Aspectos Básicos e Clínicos**. Emanuel Isaque Cordeiro da Silva, 2022.
17. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia do ciclo estral dos animais domésticos**. Emanuel Isaque Cordeiro da Silva, 2021.

18. SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. (2020). **Gametogênese Animal: espermatogênese e ovogênese**. Instituto Agrônômico de Pernambuco.
19. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro; DA SILVA, Emanuel Isaque. Hormônios e Sistema Endócrino na Reprodução Animal.
20. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Nutrição Sobre a Reprodução e Fertilidade dos Bovinos**. Emanuel Isaque Cordeiro da Silva, 2021.
21. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. Puberdade e Estacionalidade Reprodutiva dos Animais.
22. DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. Reprodução Animal: Inseminação Artificial.
23. DEALS, P. F. **New technics of artificial insemination in the mare**. International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. nov. 2003. p. 1-4. Disponível em: www.ivis.org. Acesso em abr. 2022.
24. FABINO NETO, Ronaildo, *et al.* Aspectos do Manejo Reprodutivo de Suínos. **Colloquium Agrariae**. vol. 13, n. Especial 2, Jan–Jun., 2017, p. 41-50.
25. FERNANDES, Claudia Barbosa. Tópicos especiais em Ciência Animal I-**Biotécnicas avançadas em reprodução equina**. 2012.
26. FUTINO, Daniele Olga, **Transferência De Embriões Em Equinos**. Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. 2005.
27. GONÇALVES, Paulo Brayar Dias, *et al.* **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 1. ed. São Paulo-SP. Varela, 2002.
28. GURGEL, João Rafael Chinait, *et al.* Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. 2008. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.32, n.2, p.122-132, abr./jun. 2008.
29. HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo. 2004.
30. HARTMAN, D. L. Embryo Transfer. In: McKinnon, A.O. *et al.* **Equine Reproduction**. 2nd ed. Oxford: Wiley- Blackwell, 2011. v. 2.
31. HENNEKE, D. G., *et al.* Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency in mares. **Theriogenology**. v.21, p.897-909, 1984.
32. HINRICHS, K., *et al.* Pregnancy in ovariectomized mares achieved by embryo transfer. **Equine Veterinary Journal**, Supplement 3, p. 74-75, 1985.
33. HINRICHS, K., *et al.* Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v. 26, n.4, p.455-460, 1986.
34. HINRICHS, K. Assisted reproductive techniques in the horse. **Reprod Fertil Dev**. v.25, n.1, p. 80-93. 2013.
35. HOPPER, Richard M. **Bovine Reproduction**. 1 ed. Mississippi- USA. Wiley Blackwell, 2015.
36. INTERVET. **Compêndio de reprodução animal**. 2007.
37. KATILA, T. *et al.* Procedures for handling fresh stallion semen. **Theriogenology**. v. 48, p. 1217- 1227, 1997.

38. KENNEY, R.M. et al. Minimal contamination techniques for breeding mares: techniques and preliminary findings. In: ANNUAL CONVENTION, AMERICAN ASSOCIATION EQUINE PRACTITIONERS, 1975. **Proceedings...** Boston: AAEP, 1975. v. 21, p. 327-335.
39. KLEIN, B. **Cunningham tratado de fisiologia veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro – RJ. Elsevier Editora. 2014.
40. KÖNIG, Horst Erich; LIEBICH, Hans-Georg. **Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016.
41. LAGNEAUX, D.; PALMER, E. Embryo transfer in anoestrous recipient mares: attempts to reduce altrenogest administration period by treatment with pituitary extract. **Equine Veterinary Journal**, v. 25, n. S15, p. 107-110, 1993.
42. LEITE, D. M. G. **Efeitos negativos do estresse sobre o desempenho reprodutivo**. 2002. Pós Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS.
43. LIRA, Rodrigo Araújo; PEIXOTO, Gislayne Christianne Xavier; SILVA, Alexandre Rodrigues. Transferência de embrião em equinos: revisão. **Acta Veterinária Brasilica**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.
44. LOPES, E. P. **Parâmetros reprodutivos de éguas Mangalarga marchador em projeto comercial de transferência de embriões**. 2004. Dissertação (mestrado). Viçosa, 2004.
45. LOSINO, L.; ALVARENGA, M. A. Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, 18, 2006, Araxá. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 34, p. 39-49, 2006.
46. MAIA, Hanna Gabriela Oliveira; OLIVEIRA, Neide Judith Faria de. **Fisiologia e fatores interferentes na reprodução de éguas**. 2019.
47. MATINS, Ângela Maria Ferreira; SANTOS, Virginia Alice Cruz dos. **A história do melhoramento animal**. 2019. Disponível em: <https://revistas.pucsp.br/hcensino/article/view/44799>. Acesso em mar. 2022.
48. MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Embryo transfer and related technologies. In: **Current therapy equine reproduction**. Saunders Elsevier, 2007.
49. MOREL, M. C. G. D. Selection of the mare and stallion for breeding. In: **Equine reproductive physiology, breeding and stud management**. Wallingford, CAB International, 2003.
50. NUNES, Daniela Brandão; *et al.* Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmen refrigerado. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte. v. 30, jan./jun. 2006. n° 1/2, p. 42-56. Disponível em: www.cbpa.org.br. Acesso em abr. 2022.
51. OHASHI, O.M. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo-SP, 2002.
52. OLIVEIRA, Joel Neves de. **Controle reprodutivo da égua, durante uma estação de monta, para a aplicação da técnica de inseminação artificial, sob condições tropicais**. 2015.
53. PICKETT, B.W., *et al.* Effect of seminal extenders on equine fertility. **Journal of Animal Science**, v. 40, p.1136-1146, 1975.

54. PIMENTEL, Muriel Magda Lustosa. **Monitoramento do ciclo estral de fêmeas equinas por meio de citologia vaginal, ultrassonografia e dosagem hormonal.** 2014.
55. PINTO, Hirya Fernandes. **Utilização de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina sobre o crescimento folicular e taxa de prenhez em novilhas de corte bos taurus submetidas a programa de inseminação artificial em tempo fixo.** 2018.
56. RICKETTS, S. W.; ALONSO, S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket, v. 23, n. 3, p. 189-192, May, 1991.
57. RIERA, F. L. Equine embryo transfer. In: SAMPER, J. C. **Equine breeding management and artificial insemination.** Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. P.185-199.
58. SILVA, Antonio Emídio Dias Feliciano, *et al.* **Criação de equinos.** 1 ed. Brasília- DF. Embrapa, 1998. 99p.
59. SMITH, Bradford P. **Medicina interna de grandes animais.** 3. ed. Barueri-SP. Manole, 2006.
60. SOUZA, R. T. R. **Sincronização de receptoras no diestro para utilização em programa de Transferência de Embriões em equinos.** 24F.Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Estadual Paulista. 2013.
61. SQUIRES, E. L.; *et al.* The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, 1999; v.51.
62. TESKE, Juliano. **Transferência de embriões em equinos.** 2017.
63. VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. Embryo transfer and newer assisted reproductive techniques for horses, p 211-219. In: Youngquist R.S. & Threlfall W.R. (Eds) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology.** Saunders, Missouri. 2007.
64. ZAVY, M. T., *et al.* **Uterine luminal proteins in the cycling mare.** Biology of reproduction, v.20, n. 4, p. 689-698, 1979.

