

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

**ESTRATÉGIAS DE MANEJO PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA
REPRODUTIVA DE FÊMEAS EQUINAS DA RAÇA MANGALARGA
MARCHADOR**

Adriana Wanderley Taveiros

**TESE DE DOUTORADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
VETERINÁRIA**

**Recife-PE
2008**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Adriana Wanderley Taveiros

**ESTRATÉGIAS DE MANEJO PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA
REPRODUTIVA DE FÊMEAS EQUINAS DA RAÇA MANGALARGA
MARCHADOR**

TESE DE DOUTORADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de **DOUTOR** em Ciência Veterinária.

**UFRPE
Recife-PE, Brasil
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

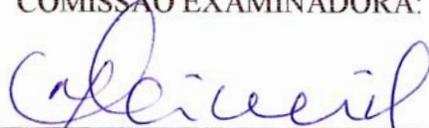
**ESTRATÉGIAS DE MANEJO PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA
REPRODUTIVA DE FÊMEAS EQUINAS DA RAÇA MANGALARGA
MARCHADOR**

Tese de Doutorado elaborada por

ADRIANA WANDERLEY TAVEIROS

Aprovada pela

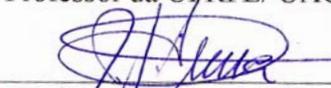
COMISSÃO EXAMINADORA:



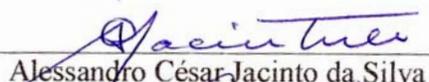
Marcos Antonio Lemos de Oliveira
- Professor Orientador -



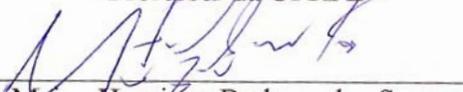
Cláudio Coutinho Bartolomeu
- Professor da UFRPE/ UAG -



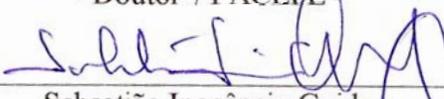
Paulo Fernandes de Lima
- Professor da UFRPE -



Alessandro César Jacinto da Silva
- Professor da UFRPE -



Marco Henrique Barbosa dos Santos
- Doutor / FACEPE -



Sebastião Inocêncio Guido
- Doutor e Pesquisador do IPA -

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo.

Aos meu pais, Danilo Taveiros e Teresa Wanderley, pelos ensinamentos, educação e oportunidade de formação profissional.

Aos meus irmãos, Patrícia e Magno, pelo apoio irrestrito e presença em todos os momentos da minha vida.

Ao meu filho Luiz Henrique e a Sílvia Barbosa de Melo, pela compreensão durante todos os momentos.

A minha querida amiga Paula Roberta da Motta Melo pelo carinho e dedicação durante todos esses anos de convívio.

Ao professor Marcos Antônio Lemos de Oliveira, pela orientação, amizade, confiança e ensinamento durante nosso convívio.

Ao professor Paulo Fernandes de Lima e Joana D'Arc da Rocha Alves pela amizade, dedicação e exemplo de profissionalismo.

Ao colega Pedro Paulo Machado pela análise estatística dos dados e todo o empenho durante a escrita da Tese.

Aos colegas João Pedro Silveira Neto e Adécio Barbosa Silva Junior pelo auxílio junto à realização dos experimentos da Tese.

Aos funcionários da Fazenda Pedra Verde pela ajuda na realização dos experimentos da Tese.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	iv
SUMÁRIO.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Aparelho Reprodutor de Fêmeas dos Animais Domésticos.....	3
2.2 Embriologia do Aparelho Reprodutor de Machos e Fêmeas.....	5
2.3 Fisiologia Reprodutiva das éguas.....	8
2.4 Uso do ultra-som na reprodução eqüina.....	9
2.5 Transferência de embriões em eqüinos.....	10
2.6 Sexagem fetal.....	11
2.7 Perda Embrionária.....	13
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
4 EFEITO DA SAZONALIDADE SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE DOADORAS DE EMBRIÃO DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR UTILIZADAS NO SUDESTE E NORDESTE BRASILEIRO..	20
5 PERDA EMBRIONÁRIA/FETAL EM PROGRAMA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQÜINO DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR.....	31
6 UTILIZAÇÃO DO ULTRA-SOM PARA SEXAR FETOS EQÜINOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR PELA VISUALIZAÇÃO DO TUBÉRCULO GENITAL E DA GENITÁLIA EXTERNA.....	43

Título: Estratégias de manejo para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas eqüinas da Mangalarga Marchador.

Autor: Adriana Wanderley Taveiros

Orientador: Marcos Antonio Lemos de Oliveira

Resumo

Neste trabalho objetivou-se aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Mangalarga Marchador. No Experimento 01 o objetivou-se otimizar o potencial reprodutivo de doadoras ($n = 5$) de embrião da raça Mangalarga Marchador submetidas a um programa anual de produção de embrião. Na Região Sudeste, Três Rios – RJ, as colheitas foram realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006 e na Região Nordeste, Limoeiro – PE, de maio a outubro de 2006. As doadoras e receptoras foram monitoradas, em dias alternados, por palpação retal com auxílio de ultra-som até a ovulação. As doadoras foram inseminadas também em dias alternados até a ovulação. No oitavo dia após a ovulação foi realizada a lavagem uterina com a solução Ringer-Lactato e os embriões foram imediatamente transferidos para as receptoras, as quais foram examinadas sete dias após para confirmação da gestação. De 80 lavados efetuados foram recuperados 69 (86,3%) embriões com 37 gestações (53,6%), resultado que evidenciou ser possível manter a produção de embriões na espécie eqüina durante todo o ano. As doadoras na Região Sudeste produziram $7,8 \pm 1,4$ embriões com $4,0 \pm 1,0$ gestações e no Nordeste produziram $6,0 \pm 2,0$ embriões com $3,4 \pm 1,1$ gestações. Com esta alternativa no programa foi possível obter adicionalmente 6,0 embriões e 3,4 gestações. Os resultados permitem concluir que é recomendável utilizar doadoras de embrião durante todo o ano porque propicia maior número de nascimentos, bem como acelera o melhoramento genético do rebanho. No experimento 02 o objetivo foi monitorar o período crítico da perda embrionária/fetal em programa de inseminação artificial e de transferência de embriões eqüinos da raça Mangalarga Marchador. O experimento foi realizado entre os anos de 2003 e 2006, na Fazenda Pedra Verde localizada no Estado de Pernambuco. Foram utilizadas 340 éguas da raça Mangalarga Marchador durante os quatro anos de experimento. As éguas foram distribuídas no grupo da inseminação artificial e no da transferência de embriões. Todas as fêmeas foram monitoradas, em dias alternados, por palpação retal com auxílio de ultra-som até a ovulação. As fêmeas da inseminação artificial e as doadoras foram inseminadas em dias alternados até a ovulação. No oitavo dia após a ovulação foi realizada a lavagem uterina com a solução Ringer-Lactato nas doadoras e os embriões foram imediatamente transferidos para as receptoras. Os diagnósticos de gestação foram realizados no 15º dia após a ovulação nas fêmeas artificialmente inseminadas e no 7º dia após a transferência do embrião, sendo todas monitoradas nos dias 20, 25, 30 e 45 de gestação para avaliação de possível perda embrionária. Das éguas artificialmente inseminadas obteve-se 879 gestações, sendo que 94 (10,7%) resultaram em perda embrionária/fetal, enquanto no programa de transferência de embrião, das 338 gestações resultantes, 40 (11,7%) resultaram em perda. No programa de transferência as perdas embrionárias foram mais tardias, provavelmente, devido ao retardo na implantação do embrião. Não foi constatada diferença significativa ($P > 0,05$) entre as perdas embrionárias ocorridas na inseminação artificial e

na transferência de embrião. Os resultados permitem concluir que a perda embrionária precoce não está relacionada com a inseminação artificial ou com a transferência de embriões, desde que sejam adotadas práticas de manejo semelhantes para todas as fêmeas. Quanto ao período de gestação em que ocorreu a perda embrionária foi constatada uma queda significativa ($P < 0,05$) do 31º ao 40º dia de gestação. No experimento 03 objetivou-se diagnosticar precocemente o sexo de fetos eqüinos ($n = 157$) da raça Mangalarga Marchador por ultra-som, identificando-se a posição final do tubérculo genital ou visualizando-se as estruturas anatômicas da genitália externa. Os exames foram realizados em dias alternados, por via transretal, entre o 58º e o 69º, bem como entre o 90º e o 150º dia de gestação. As éguas foram artificialmente inseminadas no dia da ovulação, o qual foi considerado como o dia 0 da prenhez. O diagnóstico de gestação foi realizado no 15º dia após a ovulação. Não foi observada diferença ($P > 0,05$) na acurácia da sexagem entre feto macho (95,6%) e fêmea (91,4%). Todavia, foi verificado que a acurácia do exame realizado apenas com base no tubérculo genital (90,1%) é menor ($P < 0,05$) do que a do exame efetuado considerando as estruturas da genitália externa (93,7%). Os resultados permitem concluir que o ultra-som é um método apropriado para diagnosticar precocemente o sexo fetal através da identificação da posição final do tubérculo genital, especial pela visualização de estruturas natômicas da genitália externa.

Palavras chaves: eqüino, gestação, sazonalidade, sexagem, perda embrionária, doadora, ultra-som.

Title: Strategies for management to increase efficiency of reproductive mares of breed Mangalarga Marchador.

Author: Adriana Wanderley Taveiros

Advisor: Marcos Antonio Lemos de Oliveira

Abstract

In the experiment 01 the purpose of this work was to optimize the reproductive potential of embryos donors (n = 5) of the Mangalarga Marchador breed submitted to an annual program of embryo production. In Southeast Region, Três Rios – RJ, the embryo recovery was performed between November/2005 and April/2006 and in Northeast Region from May to December/2006. The donors and recipients mares were monitored every other day by rectal and ultrasonographic examinations until they ovulated. On the eight days after ovulation the uteri of the donors were flushed with lactated Ringer's solution and the embryos were immediately transferred to the recipients mares, which were examined eight days later to confirm the pregnancy. Eighty flushes provided 69 (86.3%) embryos with 37 (53.6%) pregnancies, result that showed the possibility to produce embryo over the whole year. The donors produced, in the Southeast Region, 7.8 ± 1.4 embryos and 4.0 ± 1.0 pregnancies and in Northeast Region, 6.0 ± 2.0 embryos and 3.4 ± 1.1 pregnancies. With this alternative in the program was possible to obtain additionally 6.0 embryos and 3.4 pregnancies. The results allow recommending the use of embryo donors over the whole year because provide higher number of birth, as well as accelerate the genetic breed horse development. In the experiment 02 The purpose of this study was to compare the effectiveness of techniques such as artificial insemination and embryo transfer, with the indices of embryonic death occurred in the conduct of these techniques, during the years of 2003 to 2006. Mares were used racial mangalarga marchador aged ranging between 05 and 15 years. The mares were divided into two groups: Artificial Insemination (Group 01) and transfer of embryos (Group 02). Both groups were monitoring the cycle estral on alternate days with the help of ultra-sonography, being inseminated by ovulation from the detection of the beginning. In animals belonging to the group 01 the diagnosis of pregnancy was performed in the 15-day post - ovulation with monitoring in the days 30, 45 and 60 of gestation. In Group 02 on the eighth day post - ovulation was held the harvesting of embryo by open method, using the solution with lactated Ringer, washed positive for embryo were inoculated in receiving in good conditions that have their reproductive cycle estral controlled until ovulation. Only the embryos were inoculated ranked from 01 to 03. In this group the diagnosis of pregnancy was performed in 05 ° day after inovulação in receiving and monitoring was performed on days 15, 30, 45 and 60 of gestation. Between the years of 2003 and 2006 the group 01 received half year around 11.6%, while in group 02 to annual average was around 12%. The results suggest that allows no interference from the implementation of the techniques in rates of embryonic loss. In the experiment 03 This aim of this study was to diagnostic previously the gender of equine fetuses (n = 157) of Mangalarga Marchador by ultra-sound, identifying the final position of the genital tubercle or viewing the anatomical structures of external genitalia. The exams were realized in alternate days, by via transrectal, between 58° and 69°, as well as between 90° and 150° day

of pregnancy. The mares were artificially inseminated on the ovulation day and this day was considered as pregnancy day (Day 0). The pregnancy diagnosis was performed on the 15^o day after ovulation. There was not observed difference ($P > 0.05$) on the fetal sexing accuracy between male (95.6%) and female fetuse (91.4%). However, was verified that the accuracy of the exam realized takin into consideration the genital tubercle (90.1%) was lower ($P < 0.05$) than exam made takin into consideration the genital structures (93.7%). The results allow to conclude that the ultrasound is a suitable method to early diagnostic the fetal sex by identification of final position of genital tubercle, especially by visualization of anatomical structures of external genitalia.

Keywords: equine, gestation, seasonality, sex, embryonic loss, donors, ultra-sound.

LISTA DE TABELAS

Publicação 1		Página
Tabela 1	Desempenho reprodutivo de doadoras ao decorrer do ano.....	26
Tabela 2	Percentual de prenhez das doadoras por localidade.....	27
Tabela 3	Recuperação de embriões e prenhez médias por doadora e localidade.....	28
Publicação 2		Página
Tabela 1	Taxas de perda embrionária/fetal após a inseminação artificial.....	37
Tabela 2	Taxas de perda embrionária/fetal após a transferência de embrião..	38
Tabela 3	Taxas de reabsorção fetal em Inseminação artificial e transferência de embrião.....	39
Publicação 3		Página
Tabela 1	Eficiência da sexagem de fetos machos e fêmeas.....	49
Tabela 2	Influência do período de gestação sobre a eficiência da sexagem de fetos eqüinos.....	50

LISTA DE FIGURAS

Publicação 1		Página
Figura 1	Estratégia de sincronização para transferência de embrião.....	24
Figura 2	Fluxograma do desempenho reprodutivo das doadoras durante o ano de monitoramento.....	26
Publicação 2		Página
Figura 1	Estratégia de sincronização para transferência de embrião.....	35
Publicação 1		Página
Figura 1	Imagens de feto macho (A, B, C) mostrando o tubérculo genital (tg), cordão umbilical (cu), abdômem (ab), prepúcio (p) e testículo (te).....	47
Figura 2	Imagens de feto fêmea (A, B, C) evidenciando o tubérculo genital (tg), cauda (cd), tetas (t) e clitóris (c).....	48

1 INTRODUÇÃO

A viabilização da equideocultura moderna requer avanços tecnológicos que incrementem a produtividade do rebanho, tornando-o competitivo tanto no cenário nacional quanto internacional. Segundo estudos da Confederação Nacional Equina, o Brasil possui o terceiro maior rebanho equino do mundo, com 5,9 milhões de animais, ficando apenas abaixo da China e do México. A equinocultura desempenha importante papel na economia brasileira, pois propicia uma movimentação anual em torno de 7,5 bilhões de reais e gera em torno de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos. No que concerne a produção de equinos para corte, o Brasil é o quinto maior exportador de carne equina, e a receita gerada nesta atividade foi em torno de 34 milhões de dólares em 2005, que superou as exportações brasileiras de outras atividades como: mamão, mel, banana e cachaça. Diferente do acontece na criação de outras espécies, o equino não é selecionado para reprodução pelos seus caracteres de fertilidade e eficiência reprodutiva, mas, principalmente por sua performance ou conformação física. Por isso o uso de biotecnologias como: ultra-sonografia, inseminação artificial, transferência de embriões, e sexagem fetal auxiliam na seleção de indivíduos, além de melhorias para o criatório.

A adequada reprodução dos rebanhos é um dos pontos iniciais da cadeia de eventos do processo produtivo. A ineficiência reprodutiva pode comprometer a lucratividade da exploração por não permitir que o potencial reprodutivo máximo do rebanho seja atingido (BICUDO, 2003).

A ultra-sonografia desde que incorporada à rotina da reprodução equina na década de 80, estabeleceu uma nova dimensão para o controle de diferentes eventos reprodutivos, tais como: acompanhamento da gestação, principalmente durante os primeiros 60 dias, período que ocorrem as maiores perdas embrionárias, evitando assim perda de tempo e dinheiro por parte do criador,

além de dar um suporte ao profissional, acrescidas da sexagem fetal que agrega valores econômicos nos serviços e produtos oferecidos pelo criatório.

A sexagem fetal é uma técnica que pode ser incorporada durante o exame ultrassonográfico de rotina para diagnóstico e ou confirmação da gestação. Esta ferramenta pode contribuir para o planejamento de cruzamentos com antecedência, selecionar o rebanho em menor tempo, agregar valor ao produto e a própria gestante além contribuir para pesquisas científicas (DIAS, 2007).

Diante do exposto conduziu-se este trabalho com o objetivo de avaliar incidência de perdas embrionárias em inseminação artificial e transferência de embriões e em que faixa etária tem-se sua maior incidência, além do diagnóstico do sexo fetal através da visualização do tubérculo genital e da genitália externa em éguas Mangalarga Marchador em condições edafoclimáticas da região sul e sudeste.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aparelho Reprodutor de Fêmeas dos Animais Domésticos

A reprodução na fêmea é um processo complexo que envolve todo o corpo do animal. O sistema reprodutor das fêmeas é formado por dois ovários, duas tubas uterinas, útero, vagina e genitália externa (SISSON, 1975).

2.1.1 Ovários

São órgãos essenciais para reprodução das fêmeas, possui função endócrina e exócrina respectivamente produção de hormônios e de gametas. São glândulas pares, que geralmente se apresentam na forma estrutural de amêndoa, nas éguas apresenta forma de feijão, devido a

presença da fossa de ovulação (HAFEZ, 2004). O seu tamanho varia consideravelmente inclusive entre indivíduos da mesma espécie. A porção medular é mais vascularizada do que o córtex e compõe-se de tecido conjuntivo denso irregular entremeado com células epiteliais parênquimatosas. A superfície mais externa é composta ainda no estagio fetal de uma camada simples de tecido germinativo - células sexuais primárias. (DYCE et al., 1997).

2.1.2 Tubas Uterinas

São dutos que conduzem os ovócitos de cada ovário até o respectivo corno uterino (HAFEZ, 2004). É revestido de uma mucosa altamente pregueada que é recoberta por epitélio colunar simples ciliado. O restante da parede das tubas é formada por tecido conjuntivo submucoso, uma camada muscular lisa longitudinal interna e externa. Superficialmente é coberta pelo peritônio (SISSON, 1975).

2.1.3 Útero

O útero dos mamíferos é formado por corpo, cérvix e dois cornos. A parede uterina é formada por um revestimento de mucosa, uma camada intermediária muscular lisa e uma camada externa serosa - peritônio (DYCE, 1997; HAZEZ, 2004). Na égua o revestimento epitelial da membrana mucosa é do tipo colunar simples. Sua cérvix é relativamente lisa, mas projeta-se caudalmente adentrando no fórnice vagina. (SISSON, 1975).

2.1.4 Vagina

Órgão com dupla função, cópula e canal de parto, está localizada no interior da pélvis, limita-se cranialmente com a cervix e caudalmente com o vestibulo (SISSON, 1975). Suas paredes são constituídas por uma superfície epitelial, por uma camada muscular circular e

longitudinal e por uma serosa apenas na porção cranial. Embora a vagina não possua glândulas, suas paredes são umedecidas por transudatos do epitélio vaginal, por muco cervical e por secreções endometriais (DYCE, 1997; HAZEZ, 2004).

2.1.5 Vulva

É a porção externa da genitália das fêmeas, se estende da vagina para o exterior. Nos animais domésticos os lábios vulvares são simples. A comissura ventral encobre o clitóris, que possui a mesma origem embrionária do pênis. (DYCE, 1997).

2.2 Embriologia do Aparelho Reprodutor de Machos e Fêmeas

Os sistemas reprodutores tanto dos machos quanto das fêmeas dos animais domésticos apresentam a mesma origem embrionária (MARTIN MARTIN e GARCIA ALFONSO, 1985) O sexo genético é determinado no ato da fecundação e depende da guarnição cromossômica que se transferiu para ovo ou zigoto.

Acredita-se que o fator de diferenciação testicular (TDF), gene localizado no cromossomo Y, conhecido como SRY, corresponde a região determinante do sexo do cromossomo Y. Sendo assim, no caso dos cromossomos sexuais XY, o Y induz a formação dos testículos, determinando o sexo gonadal dos machos (WILKENS, 1982).

As gônadas são formadas primitivamente por células germinativas derivadas do interstício gonadal localizado no saco vitelino, de onde migram para a região mesênquimal chamada crista gonadal (NASCIMENTO e SANTOS, 1997). A formação da crista gonadal resulta da proliferação do epitélio celômico e da agregação do mesênquima subjacente a esta região (RÜSSE, 1997) e a partir de então ocorre a diferenciação da gônada em testículos ou ovários num processo que depende dos cromossomos pessoais.

Nos embriões de ambos os sexos, as cristas gonadais surgem inicialmente sob a forma de uma pequena proeminência longitudinal na superfície do celoma, a qual está localizada entre a parede do corpo e os órgãos internos (MICHEL, 1986), a nível de mesonéfron. Esta pequena proeminência, também conhecida como rins temporários, formam os ductos eferentes no sexo masculino, enquanto que nas fêmeas existem apenas vestígios rudimentares (SCHNOOR, 1989).

Com a diferenciação das gônadas em testículos ocorre a formação dos túbulos seminíferos e das células de Leydig, responsáveis pela secreção de testosterona. Esta, por sua vez, estimula tanto a diferenciação do sistema urogenital primitivo em próstata, pênis e bolsa escrotal quanto o desenvolvimento dos órgãos sexuais externos masculinos (SCHNOOR, 1989). No caso das células primordiais possuem apenas cromossomos XX, as gônadas indiferenciadas desenvolvem-se em ovários e estabelecem o sexo gonadal das fêmeas (WILKENS, 1982).

O desenvolvimento das vias genitais internas ocorre a partir dos ductos de Wolf ou ductos mesonéfricos que surgem sob estímulo hormonal da testosterona produzida pelas células intersticiais de Leydig. Parte desse hormônio é metabolizada em diidrotestosterona que estimula o seio urogenital a diferenciar-se nos órgãos genitais masculinos externos. As células indiferenciadas de suporte, presentes nos testículos, secretam o Fator Inibidor de Müller (MI) que inibe o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos, também chamados de ductos de Müller. A genitália externa das fêmeas desenvolve-se na ausência do estímulo da testosterona, não ocorrendo o desenvolvimento dos ductos mesonéfricos e sim dos paramesonéfricos por não haver produção de MIF, enquanto o seio urogenital forma os órgãos sexuais externos femininos devido à ausência da diidrotestosterona (NASCIMENTO e SANTOS, 1997; MOORE e PERSAUD, 2000).

O desenvolvimento embrionário da genitália externa está relacionado com a porção mais externa do seio urogenital e do mesênquima circundante (MARTIN MARTIN e GARCIA

ALFONSO, 1985). Ao se formarem-se as pregas corporais, o mesoderma lateral progride lateral e ventralmente até a cloaca para originar o componente mesodérmico da parede ventral do abdome. Em torno da membrana cloacal esse mesoderma forma três estruturas: o tubérculo genital (extremo cranial da membrana cloacal), as pregas cloacais (lateralmente à membrana cloacal) e as eminências genitais ou lábios escrotais (lateralmente às pregas cloacais) (NODEN e DE LAHUNTA, 1990). A fusão do septo uretral (futura musculatura perineal) com a membrana cloacal resulta na divisão desta em membrana anal e urogenital, com conseqüente desenvolvimento das pregas anais e uretrais (RÜSSE e GRUNERT, 1993). Após o rompimento das membranas anal e urogenital formam-se respectivamente, os orifícios anal e urogenital.

No embrião fêmea, a uretra e a vagina abrem-se em uma cavidade comum chamada vestíbulo vaginal (NODEN e DE LAHUNTA, 1990). No embrião macho, sob influenciado pela diidrotestosterona produzido pela gônada fetal, o tubérculo genital sofre um acentuado crescimento e assume a forma cilíndrica que origina o pênis. No embrião fêmea, devido a ausência de andrógenos testiculares e das prováveis ações de esteróides maternos, placentários e ovarianos fetais, o tubérculo genital desenvolve-se pouco e forma o clitóris (WILKENS, 1982; SCHNOOR, 1989). Nas fêmeas, o seio urogenital permanece curto e ao se dilatar origina o vestíbulo vaginal (MICHEL e SCHWARZE, 1970).

As pregas urogenitais permanecem separadas para originar os lábios vulvares, cobrindo o tubérculo genital situado no vestíbulo. Com o alongamento do tronco, as eminências genitais situam-se cranialmente ao tubérculo genital (NODEN e DE LAHUNTA, 1990). Nos machos e nas fêmeas as duas saliências ao redor das pregas uretrais, saliências lábio escrotais, irão participar da formação da vulva e do escroto (WILKENS, 1982; SCHNOOR, 1989).

2.3 Fisiologia Reprodutiva das Éguas

As éguas atingem a puberdade, em média aos 18 meses de idade (TAVEIROS, 2000), sendo influenciada por fatores como nutrição, manejo e enfermidades sistêmicas (GUINThER, 1979). É um animal poliéstrico estacional e durante os 12 meses apresenta diferentes fases quanto ao ciclo reprodutivo. Sabe-se que há uma variação sazonal do ciclo estral em éguas e que nem todas entram em anestro estacional no inverno (DOWSET et al.1993).

Nos eqüinos o ritmo circanual de reprodução é regulado principalmente pelas mudanças no fotoperíodo. Este fator ambiental influencia endocrinamente a glândula pineal que secreta melatonina durante a fase escura, desencadeando diminuição da atividade ovariana, seguida de anestro estacional. O período de transição vernal na égua, ou seja, a transição entre o anestro e o período de ciclos estrais regulares, ocorre pelo efeito do aumento do fotoperíodo (fotofase e ectofase) na primavera e verão. Em 1993, Guinther demonstrou que nesta fase ocorrem ondas rítmicas de crescimento folicular até que algum folículo se torne dominante para que venha ocorrer ovulação. Segundo Hafez 2006 algumas éguas parecem ser verdadeiramente poliéstricas contínuas podendo ficar prenhes em qualquer época do ano. Entretanto a maioria é poliéstrica sazonal. Em localidades que existam estação de monta, os períodos que a antecedem e a sucedem são caracterizados por variabilidade na atividade ovariana e comportamento sexual. Neste período, os folículos ovarianos crescem até determinado ponto e entram em atresia.

Na foliculogênese demonstrada nessas ondas de crescimento, o folículo dominante para o seu desenvolvimento e regride para que ocorra foliculogênese e o aparecimento de um novo folículo dominante (TAVEIROS, 2000).

2.4 Uso do Ultra-som na Reprodução Equina

A ultra-sonografia na reprodução equina começou a ser utilizada na década de 80, possibilitando uma melhor avaliação da vesícula embrionária e do feto, devendo ser levado em consideração à morfologia do útero da égua, pois os cornos uterinos estão disposto em V.

Devido à mobilidade da vesícula embrionária entre os dias 11 e 14 de gestação, deve-se ter cautela ao fazer o diagnóstico precoce de gestação. Essa mobilidade ocorre devido às contrações uterinas, que são controladas pelo concepto e cessam no dia 17 de gestação devido ao aumento do tônus uterino e da fixação da vesícula no endométrio (DUARTE, 2002).

É possível visualizar o concepto pela primeira vez a partir dos dias 9 a 13 pós-vulação, como uma vesícula esférica de 4-5 mm de diâmetro. A partir do 14º dia o diagnóstico da prenhez torna-se mais seguro e a vesícula embrionária mede em torno de 15mm (DUARTE, 2002). Segundo Taveiros (2000) nesta fase o crescimento embrionário diário é de 3mm, no entanto, no 17º dia essa velocidade diminui devido a implantação da vesícula na base do corno uterino. O concepto inicial tem formato estritamente esférico até o 15º dia de gestação, passando a forma ovóide em torno do 17º dia, assumindo a forma de pêra entre os dias 18 e 21 de gestação, após este período apresenta forma irregular. No 21º dia de prenhez, o embrião pode ser visualizado na porção ventral da vesícula, com ascensão posterior até o pólo dorsal da vesícula embrionária no 40º dia.

Em decorrência da redução do saco vitelino, entre os dias 22 e 25 ocorre a subida do embrião e a formação da membrana alantóideana (MOURA e MERK, 1994), nessa fase pode-se visualizar os batimentos cardíacos. No 30º dia o embrião posiciona-se bem ao meio da vesícula, estando no terço superior no 33º dia, havendo nessa fase penetração das células coriônicas no

endométrio para que haja formação dos cálices endometriais. No 40° dia ocorre o início da formação do cordão umbilical e o feto fica na posição dorsal (GUINThER, 1993).

A partir do 41° dia, ocorre descida do feto para a região posterior da vesícula, devido a formação do cordão umbilical, onde este está ligado dorsalmente ao alantocórion, e podem ser observados os primeiros movimentos fetais, parâmetro este relacionado com a viabilidade fetal, o feto permanece assim até o 60° dia, quando diminuiu os riscos de reabsorção embrionária.

2.5 Transferência de Embriões em Equinos

A TE na espécie eqüina teve seu primeiro relato no Brasil por Henry et al. (1987) e Fleury et al. (1987). O método mais utilizado atualmente é o transcervical, sendo a colheita de embrião realizada entre o 7° ou 8° dia, ressaltando-se que a idade do embrião não interferem na TE desde que esteja no máximo no 8° dia (MCKINNON et al 1988). Mesmo com o aumento considerável da utilização da TE em todo o mundo, são muitas as limitações para o uso desta biotécnica, tais como: o custo elevado, algumas raças ainda tem restrições em seu uso, à dificuldade na utilização da superovulação em éguas, a quantidade limitada de embriões por ciclo e as perdas embrionárias das receptoras.

As éguas selecionadas para doadoras necessitam serem submetidas aos exames clínico-ginecológico e hormonais antes de serem incluídas num programa de TE (SQUIRES et al 1985). Um programa de TE deve manter pelo menos duas receptoras para cada doadora selecionada, tendo prioridade às éguas do próprio estabelecimento e que possuem histórico reprodutivo conhecido, podendo ser incluído as paridas (SQUIRES et al 1985), enquanto Sertich (1989) recomenda o uso de éguas nulíparas, por apresentarem a cérvix longa e fechada. As receptoras selecionadas para o programa de TE também devem apresentar sanidade comprovada pelos exames clínico-ginecológico, bom escore corporal e ciclo estral regular e conhecido (HENEKKE

et al., 1983). A fertilidade da receptora pode ser testada através de colheitas de embriões e o controle folicular deve ser realizado diariamente até a constatação da ovulação (MICKNNON e SQUIRES, 1988). O grau de sincronia entre doadoras e receptoras deve ser de (-)1 a mais (+)3 da doadora, como foi sugerido por Squires (1985), apesar Fleury (1997) relatar que obteve prenhez quando utilizou receptoras ovulando até quatro dias após a doadora.

2.6 Sexagem Fetal

O caráter pioneiro de estudos sobre sexagem fetal foi descrito por Curran e Guinther que observaram a migração do tubérculo genital. O diagnóstico do sexo fetal pode ser realizado através da visualização do tubérculo genital ou da genitália externa, podendo ser realizada por via transretal e/ou abdominal (RENAUDIN et al., 1997; BUCCA, 2005). O tubérculo é uma estrutura embrionária que se diferencia em pênis nos machos e em clitóris nas fêmeas, durante essa diferenciação observa-se o aumento na distância anogenital em machos e diminuição em fêmeas (BUCCA, 2005; RENAUDIN, 1997). No exame ultrasonográfico apresenta-se como um sinal de igualdade hiperecogênica bilobulado que pode medir aproximadamente 2-3 milímetros de comprimento. Até o 55º dia de gestação o tubérculo genital está localizado entre os membros pélvicos em ambos os sexos. (BARROS e VISINTIN, 2001; BUCCA, 2005). À medida que o feto se desenvolve o tubérculo iniciará sua migração, no caso de fêmeas essa migração será caudal, em direção a base da cauda e nos macho a migração será cranial ao cordão umbilical.

Durante o processo de sexagem fetal, deve-se localizar a cabeça, o coração, a cauda e cordão umbilical do feto, para que seja visualizado o tubérculo genital e determinado o sexo com precisão, favorecida pelo plano transversal. No plano frontal a localização do tubérculo é relacionada com estruturas adjacentes, como por exemplo: os membros pélvicos (BUCCA, 2005). A diferenciação gônadal dos fetos tem sido estudada em várias espécies de mamíferos,

contudo o momento exato da diferenciação sexual não é bem conhecida em eqüinos, sendo sugerido ao redor de 39 à 45 dias de gestação(WALT et al., 1979).

O crescimento das gônadas é mais marcante entre 80 e 180 dias de gestação, atingindo seu tamanho máximo ao redor de 270 dias (GUINThER, 1992). De 120 a 180 dias há um grande aumento na dimensão das gônadas, devido ao aumento da camada medular, ocupando o córtex apenas 50 % da gônada. Ao redor de 180 a 270 dias, a camada cortical ocupa apenas um terço da superfície ovariana (WALT et al., 1979). Na rotina já se observa pela imagem ultra-sonográfica essa diminuição da camada cortical aos 140 dias de prenhez.

2.6.1 Período de Gestação para realização da Sexagem Fetal

Em eqüinos pode ser realizada entre o 58º e o 69º dia de gestação, pois antes deste período a migração do tubérculo pode não ter sido concluída conduzindo o profissional a diagnósticos equivocados (Dias, 2007). A partir do 69º dias, a visualização da região posterior do feto eqüino é dificultada pelo seu posicionamento mais profundo no útero da égua, tornando inacessível sua imagem ultra-sonográfica. Para determinação do sexo através da visualização da gônada o período ideal para realização está entre 90 e 150 dias de gestação. No feto macho observamos os testículos, o pênis e o prepúcio e nas fêmeas observa-se os ovários , tetos e clitóris.

Antes dos 110 dias de gestação, há dificuldade na distinção da genitália externa, por esta ainda não estar totalmente desenvolvida, também após 150 dias de gestação o feto assume uma apresentação anterior, dificultando o acesso à pelve e a visualização das gônadas (HOLDER, 2000).

2.6.2 Fatores que contribuem para Eficácia da Sexagem Fetal

Para que a técnica tenha uma maior eficácia alguns fatores são indispensáveis como: experiência e habilidade do profissional na visualização do tubérculo genital, elevando o grau de certeza no diagnóstico, seleção de animais passíveis ao procedimento e equipamento de ultra-som adequado (WOLF e GARIBALDI, 2002).

A maior porcentagem de erros durante a realização da sexagem fetal, está na determinação das fêmeas, devido à localização do tubérculo genital, que pode ser ocultado pela cauda do feto. Outras dificuldades surgem na secção transversal quando o membro pélvico está flexionado, que podem simular o tubérculo genital do feto macho (ALI, 2004).

A acurácia da sexagem fetal em éguas sofre variação entre os pesquisadores, Curran et al. (1989), observou 97% de exames corretos, Mari et al. (2002), em condições de campo observou 74% dos exames corretos. Enquanto Merck (1999) observou que a eficácia da técnica aumenta bastante com imagens gravadas. Esta técnica tem sido pouco explorada em exames rotineiros no campo e em áreas de pesquisa, devido ao interesse pela espécie bovina, pouca tolerância dos animais ao exame de palpação retal e falta de capacitação profissional e equipamentos adequados.

2.7 Perda Embrionária

Considera-se perda embrionária e ou fetal precoce, uma prenhez interrompida nos primeiros 60 dias. A perda da prenhez é um dos principais fatores de sub-fertilidade na espécie eqüina.

A fase da gestação em que esta perda ocorre e a incidência dessas perdas no rebanho estão diretamente ligadas ao trato reprodutivo (GINTHER, 1985), variando como causas: pela idade dos

animais, condição nutricional do rebanho e intervalo do diagnóstico de gestação.(DUARTE et al., 2002).

Ginther (1993) relatou que os índices de mortalidade do conceito no início da gestação são mais altos do que em estádios mais avançados, isso se deve provavelmente, a inadequação do meio ambiente uterino na chegada do embrião entre o 5º e o 6º dia pós-ovulação, bem como a falta de mobilidade entre o 11º e o 15º dia, com conseqüente ausência do reconhecimento da gestação. Há vários parâmetros ultra-sonográficos para se predizer uma morte embrionária, tais como: anormalidades no desenvolvimento, aumento da ecogênicidade do fluido da vesícula embrionária (desorganização das membranas placentárias), irregularidade da parede da vesícula embrionária e do endométrio (diminuição da produção e aumento na reabsorção do fluido embrionário).

Em gestações mais avançadas como não é possível acessar o formato e o tamanho do saco fetal a avaliação deve ser concentrada principalmente no feto e na observação de sua frequência cardíaca.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, A. Effect of gestacional age and fetal position on the possibility and accuracy of ultrasonigraphic fetal gender determination in dairy cattle. **Reproduction Domestic Animals**. Berlin, v.39, p.190-194, junho de 2004.

.BICUDO, S.D.O. O diagnóstico ultra-sonográfico em ovinos. Disponível em: <http://www.fmvzunesp.br/ovinos>. Acesso em 10 de outubro de 2007.

BUCCA, S. Equine fetal gender determination from mid- to advanced gestation by ultrasound. **Theriogenology**, Woburn, v.64, p.568-571, agosto2005.

CORNWEEL, J.C. Puberty in the Quarter horse colt. **Journal Animal Science**, v.36, p.215, 1973.

CURRAN, S.S.; GINTHER, O.J. Ultrasonic diagnosis of equine fetal sex by location of the genital tubercle. **Journal Equine Vet.**, v.9, p.77-83, 1989.

DIAS , L.M.K. **Diagnóstico de Gestação , quantificação e sexagem fetais por meio de ultrasonografia convencional em éguas e ovelhas**. 2007, 70p Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) Lavras: Universidade Federal de Lavras.

DOMER, F.R.; BROWN, R.L.; WESSIER, G. Involvement of the simpmpathetic nervous sistem in the urinary bladder internal sphincter and penile erection in the anesthetized. **Inv. Urology**, v.15, p.404, 1978.

DOWSETT, K.F. et al. Seasonal variation in the estrous cycle of mares in the subtropics. **Theriogenology**, v.39, p.631-653, 1993.

DUARTE, M.B., VIEIRA, R.C., SILVA, F.O. Incidência e perda de prenhez até o 50° dia em éguas quarto de milha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p.643-647, 2002.

DYCE, K.M.; SCAR, W.O. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 2°ed., Guanabara/Koogan, 1997, 623p.

FLEURY, J.J.; ALVARENGA, M.A.; FIGUEREDO COSTA, J.B. Transferência de embriões em eqüinos. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, VII**, Belo Horizonte, 1987.

GINTHER O.J. Parturition, postpartum period, and prepuberal period. In: GINTHER O. J. **Reproductive biology of the mare**. Ann Arbor, M. I.: McNaughton & Gunn, 1979. Cap.2, p.359.

GINTHER, O.P. In: GINTHER, O.P. **Ultrasound imaging and reproductive events in the mare**. Madison: Equiservice, 1985. 377p.

GINTHER, O.J. **Reproductive biology of the mare**. Published Equiservices, 2^oed., p.392-408, 1992.

GINTHER, O.P.; GRIFFIN, P.G. Natural outcome and ultrasonic identification of equine fetal twins. **Theriogenology**, v.42, n.5, p.1193-1194, 1993.

HAFEZ, E. S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7^oed., Editora Manole, 2004, 513 p.

HEMEIDA, N. A. et al. Ductuli efferentes in the epididymis of boar, goat and stallion. **Animal Veterinary Journal**, v.39, 1978.

HENRY, M.; MEIRA, C.; OLIVEIRA, M.M. Transferência não cirúrgica em eqüídeos. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, VII**, Belo Horizonte, 1987, p.74.

HENNEKE, D.R.; POTTER, G.D.; KREIDER et al. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v.15, n.4, p.371-372, 1983.

HOLDER, R.D. Fetal sex determination in the mare between 55 and 150 days gestation. **AEEP Proceedings**, v.46, p.321-324, 2000.

JOHNSON, L. e TATUM. Temporal appearance of seasonal changes in numbers of sertolli cells, Leydig cells and germ cells in stallions. **Biology Reproductive**, v.40, p.994, 1989.

MARI, G.; CASTAGNETTI, C.; BELUZZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, v.58, p.1237-1243, 2002.

MARTIN MARTIN e GARCIA ALFONSO, 1985. Bases anatômicas: Embriologia del aparelho genital. In: **Fisiologia de La reproduccion com sus bases sinopticas**. Zaragoza: Acribia, 1985. Cap.1, p.117-136.

MICHEL, G. Die Entwicklung der Organe, Organogênese: Die Entwicklung des Geschlechtsapparates. In: **kompndium der Embryologie der Haustiere**. Stuttgart: Gustav Fisher Verlag, 1986. p.223-242.

MICHEL, G.; SCHWARZE, E. **Compendio de anatomia veterinária: embriologia**. Zaragoza: Acribia, 1970. 350p.

McKINNON, A.O.; SQUIRES. Morphologic assessment of the equine embryo. **Journal America Veterinary Medical Association**, v.192, n.3, p.401-406, 1988.

McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VOSS, J.L. Equine embryo transfer. *Veterinary clinical of North America*, **Equine practice**, v.4, n.2, p.305-333, 1988.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. Sistema urogenital. In ____: **Embriologia clínica**. 6^oed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p.290-331.

MOURA, J.C.A.; MERKT, H. In: **A ultra-sonografia na reprodução eqüina**. 2^oed., Salvador: Editora Universitária Americana, 1994. 162 p.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. Embriologia do sistema genital e diferenciação sexual. In ____: **Patologia da Reprodução dos animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.3-5.

NODEN, D.M.; DE LAHUNTA, A. **The embryology of domestic animals**. Baltimore: Williams e Wilkins, 1990, p.330-342.

RENAUDIN, C.D. Determinación Del sexo fetal em eqüinos mediante ultrasonografia, **International veterinary information service**, Ithaca, New York, USA, 2000.

RENAUDIN, C.D.; GILLIS, C.L.; TARANTAL, A.F. Transabdominal combined with transrectal ultrasonographic determonation of equine fetal gender during midgestation. **AAEP proceedings**, v.43 , p.252- 255,1997.

RÜSSE, L.; GRUNERT, E. Die normale Gravidität. In ____: RITCHER, J. et al. Tiergeburtshilfe. Berlin: Verlag Paul Parey, 1993. p.29-64.: Verlag Paul Parey, 1991. p.31-337.

RÜSSE, L. **Harn – und Geschlechtsorgane**. In ____: RÜSSE, L.; SINOWATZ, F. *Lerburch der Embryologie der Haustiere*, 1997.

SERTICH, P. L. Transfer in performance mares. **Journal of American Veterinary and Medical Association**, v.195, n.7, p.940-944, 1989.

SISSON, G; GETTY, R. Anatomia dos animais Domésticos. 3ªed. Guanabara/Koogan, 1975, 1962p.

SCHNORR, B. Entwicklung der Organe, Organogênese: Die Entwicklung des Geschlechtsapparates. In___: **kompndium der Embryologie der Haustiere**. Stuttgart: Verlag Enke, 1989. p.65-180.

SQUIRES, E.L.; COOK, V.M.; VOSS, J.L. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and Laboratory Bulletin**, n.1, p.1-37, 1985.

TAVEIROS, A.W. **Transferência de embriões eqüinos da raça Mangalarga Marchador. Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 42p., 2000.

WILKENS, H. **Embryologie und Anatomie des weiblichen Genitale**. In___: GRUNERT, E.; BERCHTOLD, M. **Fertilitätsstörungen beim weiblichem Rind**. . Berlin: Verlag Paul Parey, 1982, p.25-48.

WALT, M.L.; STABENFELDT, G.H.; HUGHES, J.P.; NEELY, D.P; BRADBURY, R. Development of the equine ovary and ovulation fossa. **J. REPROD. VET**, suppl. 27, p.471-477, 1979.

WOLF, A.; GARIBALDI, S.H. Acompanhamento ultra-sonográfico da gestação em grandes animais. **Ciências Agrárias e Saúde**, Andradina v.2, n.2 , p.77-83 , julho/dezembro 2002.

**EFEITO DA SAZONALIDADE SOBRE O DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE DOADORAS DE EMBRIÃO DA RAÇA
MANGALARGA MARCHADOR UTILIZADAS NO
SUDESTE E NORDESTE BRASILEIRO**

**(Effect of the seasonality on the reproductive performance of embryo
donors of the Mangalarga Marchador used in the
Brazilian Southeast and Northeast)**

Adriana Wanderley Taveiros¹, Paula Roberta da Motta Melo², Pedro Paulo Machado¹, Adelcio Barbosa Silva Junior², Paulo Fernandes Lima¹, Marcos Antonio Lemos Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. 52171-900 Recife-PE/Brasil.

²Médica Veterinária Autônoma.

Resumo

Objetivou-se com este trabalho otimizar o potencial reprodutivo de doadoras (n = 5) de embrião da raça Mangalarga Marchador submetidas a um programa anual de produção de embrião. Na Região Sudeste, Três Rios – RJ, as colheitas foram realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006 e na Região Nordeste, Limoeiro – PE, de maio a outubro de 2006. As doadoras e receptoras foram monitoradas, em dias alternados, por palpação retal com auxílio de ultra-som até a ovulação. As doadoras foram inseminadas também em dias alternados até a ovulação. No oitavo dia após a ovulação foi realizada a lavagem uterina com a solução Ringer-Lactato e os embriões foram imediatamente transferidos para as receptoras, as quais foram examinadas sete dias após para confirmação da gestação. De 80 lavados efetuados foram recuperados 69 (86,3%) embriões com 37 gestações (53,6%), resultado que evidenciou ser possível manter a produção de embriões na espécie equina durante todo o ano. As doadoras na Região Sudeste produziram 7,8±1,4 embriões com 4,0±1,0 gestações e no Nordeste produziram 6,0±2,0 embriões com 3,4±1,1 gestações. Com esta alternativa no programa foi possível obter adicionalmente 6,0 embriões e 3,4 gestações. Os resultados permitem concluir que é recomendável utilizar doadoras de embrião

durante todo o ano porque propicia maior número de nascimentos, bem como acelera o melhoramento genético do rebanho.

Palavras chaves: útero, lavagem, receptora de embrião.

Abstract

The purpose of this work was to optimize the reproductive potential of embryos donors ($n = 5$) of the Mangalarga Marchador breed submitted to an annual program of embryo production. In Southeast Region, Três Rios – RJ, the embryo recovery was performed between November/2005 and April/2006 and in Northeast Region from May to December/2006. The donors and recipients mares were monitored every other day by rectal and ultrasonographic examinations until they ovulated. On the eight days after ovulation the uteri of the donors were flushed with lactated Ringer's solution and the embryos were immediately transferred to the recipients mares, which were examined eight days later to confirm the pregnancy. Eighty flushes provided 69 (86.3%) embryos with 37 (53.6%) pregnancies, result that showed the possibility to produce embryo over the whole year. The donors produced, in the Southeast Region, 7.8 ± 1.4 embryos and 4.0 ± 1.0 pregnancies and in Northeast Region, 6.0 ± 2.0 embryos and 3.4 ± 1.1 pregnancies. With this alternative in the program was possible to obtain additionally 6.0 embryos and 3.4 pregnancies. The results allow recommending the use of embryo donors over the whole year because provide higher number of birth, as well as accelerate the genetic breed horse development.

Key Words: uteri, flush, embryo recipient.

Introdução

O primeiro sucesso da transferência de embrião em eqüinos foi relatado por Oguri & Tsutsumi (1972). No Brasil, sua utilização somente foi possível após a permissão da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Mangalarga Marchador, fato que motivou a condução de pesquisas tendo em vista a possibilidade de uma fêmea produzir muito mais embriões do que seria possível com a monta natural ou a inseminação artificial (TAVEIROS, 1999).

Apesar do inegável benefício da transferência de embrião para a aceleração da melhoria genética dos rebanhos (SQUIRES et al., 1985), ela ainda é limitada porque somente ocorre uma ovulação por ciclo estral, o que normalmente resulta na recuperação de um embrião por colheita (McKINNON; VOSS, 1992; HAFEZ, 2004), além da estacionalidade que algumas éguas apresentam em determinadas regiões (PERES et al., 2006). Com o advento da superovulação, esta técnica poderia gerar um número bem mais expressivo de embriões, entretanto, os resultados não são ainda muito animadores quando é considerado seu custo/benefício. Squires et al. (2004) cita que a transferência de embrião associada à superovulação proporciona uma recuperação de 1,5 embriões/égua doadora, enquanto fêmeas não superovuladas proporcionam 0,73 embrião/égua doadora, resultado que não justifica a utilização da técnica em condição economicamente viável.

O ciclo reprodutivo da égua é o mais vulnerável às variações climáticas entre as espécies domésticas (GINTHER, 1993). A espécie depende da exposição diária à luminosidade, condição que justifica sua atividade reprodutiva durante todo o ano em baixa latitude, onde não há grandes variações de luminosidade (McKINNON; VOSS, 1992). A maioria das éguas são poliéstricas sazonais e mesmo naquelas com atividade sexual durante todo o ano, nem sempre são capazes de conceberem em todos os ciclos (HAFEZ, 2004).

Com este trabalho teve-se o objetivo de otimizar o potencial reprodutivo de doadoras de embriões da raça Mangalarga Marchador submetidas a um programa anual de transferência de embrião, sendo de novembro a abril na Região Sudeste e de maio a outubro na Região Nordeste.

Material e Métodos

Neste experimento foram monitorados, durante os meses de novembro de 2005 a outubro de 2006, o desempenho reprodutivo de cinco éguas doadoras de embriões da raça Mangalarga Marchador.

Durante os meses de novembro de 2005 a abril de 2006, as éguas permaneceram na Fazenda Escuro, localizada no Município de Três Rios (latitude 22°07'00" sul; longitude 43°12'33" oeste) no Estado do Rio de Janeiro, onde a temperatura média foi de 31 °C e o índice pluviométrico médio de 2070 mm³. Nos meses de maio a outubro de 2006, essas éguas foram alojadas na Fazenda Pedra Verde, localizada no Município de Limoeiro (latitude 07°52'29" sul; longitude 53°27'01" oeste) no Estado de Pernambuco, onde a temperatura média foi de 23 °C e o índice pluviométrico médio de 1270 mm³. Em ambos os locais, as éguas doadoras permaneceram em manejo intensivo, sendo ofertados, no cocho, tiftum (*Cynodon* spp.), capim pangola (*Digitaria decumbes*), alfafa (*Medicago sativa*) e ração comercial (Corcelina - Purina®/São Lorenzo da Mata-PE), além de água e sal mineral (Coequisalplus – Tortuga/São Paulo-SP) ad libitum.

Todas as fêmeas, doadoras e receptoras de embrião, foram submetidas ao exame de palpação retal com auxílio de ultra-som (Aloka SSD 500 – Tóquio/Japão), para controle da ovulação em dias alternados. A partir da detecção do estro, as doadoras foram inseminadas em dias alternados até a ovulação. A sincronização do ciclo estral entre doadoras e receptoras foi

realizada conforme proposição de Squires et al. (1985), buscando um intervalo de -1 até +3 dias da ovulação da receptora em relação à ovulação das doadoras (Figura 1).

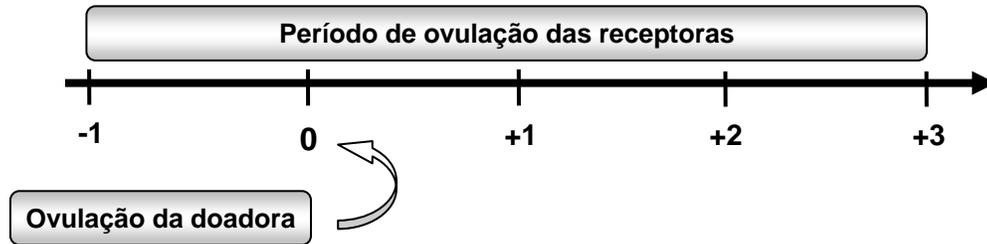


Figura 1. Estratégia de sincronização para transferência de embrião.

A lavagem uterina das doadoras foi realizada no oitavo dia após ovulação pelo método aberto, introduzindo-se a sonda (BIVONA – St. Paul, Minnesota/USA) até o corpo do útero para fixação do balão nas paredes. As lavagens foram implementadas, utilizando-se 3 litros de solução Ringer-Lactato dividida em 3 frações (Fleury, 1998). Após o término da última lavagem, o balão foi esvaziado e a sonda retirada. O conteúdo do filtro foi depositado em placas de petri para o rastreamento das estruturas em lupa estereoscópica, como sugerido por Oguri & Tsutsumi (1980). Imediatamente após a colheita, as doadoras receberam uma dose de $PGF_{2\alpha}$ (Lutalyse – Pharmácia/São Paulo), via intramuscular, para indução da luteólise.

O embrião foi transferido para uma placa de petri contendo meio de cultura (TQC – Nutricell, Nutrientes LTDA/Campinas-SP). Sob lupa estereoscópica foi avaliado quanto ao seu estágio de desenvolvimento e sua qualidade morfológica. Somente aqueles classificados entre grau I e III foram transferidos para as receptoras num período de tempo de até três horas conforme recomendação de McKinnon et al. (1993). Após 7 dias da transferência dos embriões foi realizada a ultra-sonografia para comprovação da gestação, sendo ainda avaliados no 20º, 30º e 45º dia da gestação.

O número de colheitas realizadas, o de embriões transferidos e o de gestações diagnosticadas foram as variáveis estudadas. Os dados foram dispostos de acordo com a local de realização do experimento e ao longo dos meses avaliados. Os resultados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado, considerando a probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

De 80 lavados efetuados foram recuperados 69 (86,3%) embriões, dado que resultou em 37 gestações (53,6%) conforme pode ser observado na Tabela 1. Esta porcentagem de recuperação embrionária foi superior aos 48,0% reportados por Taveiros et al. (1999), aos 53,0 % de Reilas et al. (2000), aos 63,4% de Jacob et al. (2000) e aos 72,7% de Guimarães et al. (2007). Quanto à porcentagem de gestação, verificou-se que foi próxima dos 46,0% de Leidl e Braun (1988), 48% de Wade et al. (1989) e dos 49,5% de Taveiros et al. (2003), mas inferior aos 77,0% relatados por Wilson et al. (1987), aos 60,0% por Farinasso et al. (1989), aos 66,0% por Pool-Andersen e Sigler (1989) e aos 69,3% por Peres et al. (2006).

Analisando-se a Tabela 1 e a Figura 2 é possível constatar que a atividade reprodutiva pode ser mantida durante todo o ano. Mesmo que tenha sido registrada uma redução ($P < 0,05$) dos embriões viáveis entre julho e setembro e de ter sido inferior aos achados de Jacob et al. (2002) e Guimarães et al. (2007), não houve diferença ($P > 0,05$) entre as porcentagens de prenhez anual. Em discordância com o exposto, Palmer e Guillaume (1992), Dowset et al. (1993) e Ginther (1993) afirmam que as éguas entram em anestro estacional no inverno, enquanto Hafez (2004) alega que algumas éguas podem se apresentar como poliétricas contínuas durante todo o ano, no entanto, sem conceberem.

Quando se compara a temperatura e a pluviosidade da Região Sudeste com às do Nordeste durante os meses de colheita de embriões, observa-se que o Sudeste, por ter apresentado uma

média alta de temperatura gerando estresse térmico nas doadoras e receptoras, poderia ter obtido menor número de embriões e gestações. Entretanto nesta região houve um incremento da produtividade no mês de janeiro em decorrência da dupla ovulação de parte das doadoras. No Nordeste, em contrapartida, além do estresse do deslocamento e de adaptação ao novo ambiente, em julho, devido à elevação do índice pluviométrico, houve uma diminuição da atividade reprodutiva de algumas éguas, ocasionando uma queda na produção de embriões e prenhez.

Tabela 1 - Desempenho reprodutivo de doadoras ao decorrer do ano.

Período do ano	Coletas n	Embriões		Prenhez	
		n	%*	n	%**
Janeiro a Março	22	21 ^a	95,5	13 ^a	61,9
Abril a Junho	18	17 ^a	94,4	8 ^a	47,1
Julho a Setembro	19	10 ^b	52,6	5 ^a	50,0
Outubro a Dezembro	21	21 ^a	100,0	11 ^a	52,4
Total	80	69	86,3	37	53,6

* = percentagem relativa ao nº de coletas

** = percentagem relativa ao nº de embriões coletados

Letras diferentes em mesma coluna representam diferença significativa para teste do X^2 ($P < 0,05$)

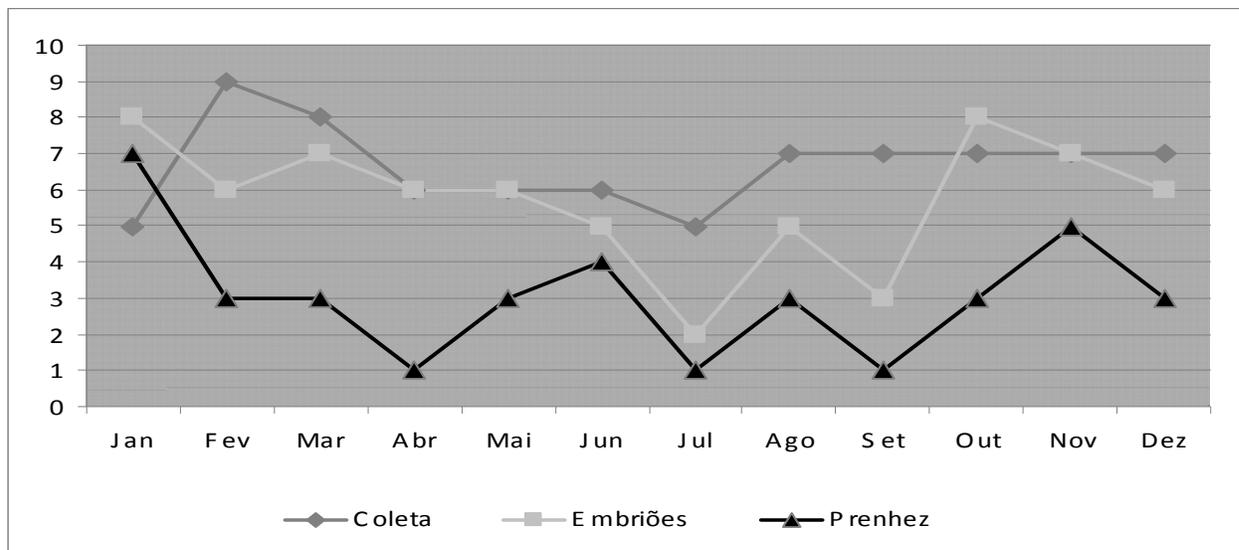


Figura 2 - Fluxograma do desempenho reprodutivo das doadoras durante o ano de monitoramento.

Quando comparada à recuperação de embriões entre o Sudeste e o Nordeste (Tabela 2), observa-se que foi superior ($P < 0,05$) no Município de Três Rios, contudo, não foi registrada diferença ($P > 0,05$) quanto à prenhez. É importante ressaltar que nos programas de transferência de embrião em equinos da Região Sudeste, as colheitas somente são efetuadas durante seis meses do ano. Todavia, com a transferência das doadoras para a Região Nordeste, o programa de transferência pode ser prolongado para todos os meses do ano, acarretando maior quantidade de embriões recuperados e maior número de produtos ao ano.

Tabela 2 - Percentual de prenhez das doadoras por localidade.

Localidade	Coletas N	Embriões		Prenhez	
		n	%*	n	%**
Limoeiro (Região Nordeste)	39	30 ^a	76,9	17 ^a	56,7
Três Rios (Região Sudeste)	41	39 ^b	95,1	20 ^a	51,3
Total	80	69	86,3	37	53,6

* = percentagem relativa ao n° de coletas

** = percentagem relativa ao n° de embriões coletados

Letras diferentes em mesma coluna representam diferença significativa para teste do X^2 ($P < 0,05$)

Quando as doadoras foram individualmente avaliadas (Tabela 3) verificou-se que o potencial reprodutivo foi equacionado de forma mais racional em virtude de cada doadora, quando utilizada somente no Sudeste, ter produzido uma média anual de 7,9 embriões com 4,0 gestações. Quando transferidas para o Nordeste, pode produzir adicionalmente 6,0 embriões que resultaram em 3,4 gestações, justificando o investimento do transporte e da continuação do programa de transferência de embriões.

Tabela 3 – Recuperação de embriões e prenhez médias por doadora e localidade.

Localidade	Éguas doadoras (animal)	Coletas n	Embriões	Prenhez
			n	n
Limoeiro (Região Nordeste)	1	8	4	3
	2	9	7	4
	3	8	5	2
	4	7	5	3
	5	7	9	5
Média (X±DP)	-	7,8±0,8	6,0±2,0	3,4±1,1
Três Rios (Região Sudeste)	1	11	9	5
	2	7	7	3
	3	7	6	3
	4	8	10	5
	5	8	7	4
Média (X±DP)	-	8,2±1,6	7,8±1,6	4,0±1,0

Os resultados permitem concluir que é recomendável utilizar doadoras de embrião durante todo o ano porque propicia maior número de nascimentos, bem como acelera o melhoramento genético do rebanho.

Referências

DOWSETT, K. F; KNOOT, L.M; R. A. WOODWARD, R.A e BODERO,D.A.V. Seasonal variation in the estrous cycle of mares in the subtropics. **Theriogenology**, v.39, p.631-653, 1993.

FARINASSO, A; FARIAS, C.D; MARIANTE, A.S. Embryo tecnology applied to the conservation of equides. **Equine Veterinary Journal.**, v.8, n.84 ,1989.

FLEURY, J.J. Transferência não cirúrgica de embriões eqüinos colhidos no oitavo dia pós-ovulação. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v .26, n.1, 1998.

GINTHER, O.P; GRIFFIN, P.G. Natural outcome and ultrasonic identification of equine fetal twins. **Theriogenology**, v.42, n.5, p 1193 – 1194, 1993.

GUIMARÃES, J. D; LOPES, E.P; SIQUEIRA, J.B; ROCHA, A.N; TORRES, C.A.A; PINHO, R.O ;CARVALHO, G.R. Taxas de recuperação embrionária em programa comercial de transferência de embriões (TE) em éguas da raça Mangalarga Marchador. **Acta Scientiae Veterinariae: SBTE**, UFRGS, Porto Alegre, v.35. supl.3, 2007. p.1220.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7ªed., ed. Manole, 2004, 513 p.

JACOB, J.C.F.; ALBUQUERQUE, M.A.; DOMINGUES, M.B. et al. Taxa de gestação em éguas Mangalarga Marchador inseminadas pós-ovulação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.24, n.1, p.51-55, 2000.

LEIDL, W; BRAUN, J. Non – surgical embryo transfer in horses with ET-GUN designed for use in cattle. **Theriogenology**, v.29, n.1, p.270, 1988.

McKINNON, A. O.; VOSS, J.L.;JAMES, L. **Equine Reproduction**. Pennsylvania, Lea & Febigen, ed.1, 1992, 1137p.

PALMER, E. Induction of ovulation. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.344-347.

PALMER, E. GUILLAUNE, D. Photoperiodism in the equine species – what is a long night ? **Animal Reproduction Science**. v.28, p.21-30,1992.

PERES, K.R ; LANDIM-ALVARENGA , F.C; ALVARENGA, MA. Utilização do primeiro ciclo ovulatório da estação reprodutiva para produção de embriões em éguas sob condições tropicais. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**. v.43, n.2, p.270 -279. 2006.

POOL-ANDERSON,K.F; SIGLER, D.H. Feasibility of producing full sibling research horse by embryo transfer. **Equine Veterinary Journal** , v.11, n.8 , p.76, 1989.

REILAS T.; KATILA T.; MAKELA O.; HUHTINEN M.; KOSKINEN E. Intrauterine fluid accumulation in oestrous mares. **Acta Vet. Scand.**, v.38, p.69-78, 1997.

SQUIRES , E.L; COOK , V.M ; VOSS , J.L . Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and Laboratory Bulletin**, n.1 p.1-37, 1985.

TAVEIROS, A.W; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. Diferentes receptoras na transferência de embriões eqüinos Mangalarga Marchador. **Revista brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.391-393, 1999.

TAVEIROS, A.W.; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F.; TENÓRIO FILHO, F.; BARTOLOMEU, C.C.; SANTOS, M.H.B. OLIVEIRA, L.R.S. Ultrasonographic monitoring of 103 recipient mares of different reproductive status during the first 30 days after embryo transfers. **Veterinary Record**, v.153, p.558-560, 2003.

WADE, J.; GALLAGHER, M.; GORDON, I. Equine embryo transfer in Ireland from research into commercial practice. **Equine Veterinary Journal**, v.8, p.76, 1989.

WILSON, J.M.; ROWLEY, W.K. et al. Successful non-surgical transfer of equine embryos to post – partum lactating mares. **Theriogenology**, v.27, n.1, 1987.

**PERDA EMBRIONÁRIA/FETAL EM PROGRAMA DE INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL E DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINO
DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR**

**(Embryonic/fetal loss in artificial insemination and embryo transfer programs in
mares Mangalarga Marchador breed)**

Adriana Wanderley Taveiros¹, Paula Roberta da Motta Melo², Pedro Paulo Machado¹, João Pedro SILVEIRA², Leopoldo Mayer Freitas Neto¹, Maico Henrique Barbosa Santos³, Paulo Fernandes Lima¹, Marcos Antonio Lemos Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. 52171-900 Recife-PE/Brasil.

²Médica Veterinária Autônoma.

³Bolsita (BFP) da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Rua Benfica, 150, Madalena, 50720 001 Recife-PE, Brasil.

Resumo

Objetivou-se neste trabalho monitorar as perdas embrionária/fetal nos programas de inseminação artificial e de transferência de embriões eqüinos da raça Mangalarga Marchador. Foram utilizadas 340 éguas entre os anos de 2003 e 2006, as quais foram monitoradas, em dias alternados, por palpação retal com auxílio de ultra-som até a ovulação. As fêmeas da inseminação artificial e as doadoras foram inseminadas em dias alternados até a ovulação. No oitavo dia após a ovulação foi realizada a lavagem uterina nas doadoras e os embriões foram imediatamente transferidos para as receptoras. Os diagnósticos de gestação foram realizados no 15º dia após a ovulação nas fêmeas artificialmente inseminadas e no 7º dia após a transferência do embrião. O monitoramento ultra-sonográfico para confirmar a gestação e perda embrionária/fetal foi efetuado nos dias 20, 25, 30 e 45 da gestação. Das éguas artificialmente inseminadas foram obtidas 879 gestações, sendo que 94 (10,7%) resultaram em perda embrionária/fetal, enquanto no programa de transferência de embrião, das 338 gestações resultantes, 40 (11,7%) resultaram em perda embrionária/fetal. Não foi constatada diferença significativa ($P > 0,05$) entre as perdas

embrionária/fetal ocorridas na inseminação artificial e na transferência de embrião. Os resultados permitem concluir que no programa de transferência de embrião, as perdas embrionária/fetal foram mais tardias, provavelmente, devido ao retardo na implantação do embrião e que a perda embrionária não está relacionada com a inseminação artificial ou com a transferência de embriões, desde que sejam adotadas práticas de manejo semelhantes para todas as fêmeas.

Palavras chave: biotecnologia, gestação, reabsorção embrionária.

Abstract

The purpose of this work was to monitoring the embryo/fetal loss in artificial insemination and embryo transfer programs in mares Mangalarga Marchador breed. They were utilized 340 mares between the years of 2003 to 2004, which were monitored every other day by rectal and ultrasonographic examinations until they ovulated. The females of artificial insemination and donors were inseminated every other day until they ovulated. On the eight days after ovulation the uteri of the donors were flushed and the embryos were immediately transferred to the recipient's mares. The diagnoses of gestation were carried out in the 15^o day later ovulation in females artificially inseminated and in the 7^o day later embryo transfer. The ultrasonographic monitoring for confirm gestation and embryonic/fetal loss was performed us days 20, 25, 30 and 45 of the gestation. In mares artificially inseminated were obtained 879 gestations, being that 94 (10.7%) resulted in embryonic/fetal loss, while in the embryo transfer program, of the 338 gestations, 40 (11.7%) resulted in embryonic/fetal loss. It was not established significant difference ($P > 0.05$) between the embryonic/fetal losses occurred in the artificial insemination and in the embryo transfer. The results allow to conclude that in the embryo transfer program, the embryonic/fetal losses were later, probably, due to the delay in the embryo implementation and

that the embryonic loss is not related with the artificial insemination or with the embryos transfer, since are adopted similar management practices for all the females.

Keywords: biotechnology; gestation, embryonic reabsorption.

Introdução

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 eqüina, 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 (MEIRA, 1990; TAVEIROS et al., 1999). Essa técnica ainda proporciona um menor desgaste dos garanhões e a não disseminação de doenças sexualmente transmissíveis (FLEURY, 1989; TAVEIROS, 2000).

No caso da transferência de embriões ocorre uma propagação do material de fêmeas geneticamente superiores, promovendo um aumento anual significativo do número de crias (BALL et al., 1989). No Brasil, diversos estudos têm sido realizados no sentido de difundir ambas as técnicas em eqüinos, sobretudo em relação à transferência de embrião (FLEURY et al., 1989; TAVEIROS et al., 1999/2003).

A perda embrionária precoce na espécie eqüina é um problema que pode afetar a eficiência reprodutiva do rebanho porque ocorre entre 5% e 45% das gestações (BALL, 1993; DUARTE et al., 2002). Essas perdas, de acordo com Ginther et al. (1985), são mais elevadas quando comparadas com as perdas em estádios de gestações mais avançados. Ainda segundo esses autores, são decorrentes da inadequação do meio ambiente uterino por ocasião da chegada do embrião ao útero entre o 5º e 6º dia de gestação, bem como a ausência do reconhecimento

maternal da prenhez em decorrência da mobilidade do embrião entre o 11º e 15º dia de gestação. Os altos índices de perdas embrionárias nos programas de transferência de embriões têm comprometido a difusão e a implantação desta técnica em consequência do seu alto custo, principalmente na manutenção das receptoras (TESTA et al., 2005; ALONSO et al., 2005).

A intensificação do uso do ultra-som na Medicina Veterinária a partir da década de 80 contribuiu para aumentar a eficiência do exame clínico-ginecológico, possibilitando detectar vesículas embrionárias entre 10 ou 12 dias a pós a ovulação, assim como sinais precisos da evolução da gestação e da perda embrionária (PALMER e DRIANCOURT, 1980; TAVEIROS et al., 2003).

Considerando a inexistência de relato comparando perda embrionária/fetal entre fêmeas artificialmente inseminadas e fêmeas receptoras de embrião, objetivou-se monitorar o período crítico da perda embrionária/fetal tanto no programa de inseminação artificial quanto no de transferência de embriões.

Material e Métodos

O experimento foi realizado entre os anos de 2003 e 2006, na Fazenda Pedra Verde localizada no Município de Limoeiro no Estado de Pernambuco. A região é caracterizada por clima quente e úmido, com temperatura média em torno de 24°C e a precipitação pluviométrica de 1248mm³.

Foram utilizadas 340 éguas da raça Mangalarga Marchador com idade de 5 a 15 anos durante os quatro anos de experimento. As éguas foram distribuídas no grupo da inseminação artificial e no da transferência de embriões.

As éguas doadoras de embrião (n = 15) foram submetidas ao manejo intensivo, sendo ofertados, no cocho, tiftum (*Cynodon* spp.), capim pangola (*Digitaria decumbes*), alfafa

(*Medicago sativa*) e ração comercial (Corcelina - Purina[®]/São Lorenço da Mata-PE), além de água e sal mineral (Coequisalplus – Tortuga/São Paulo-SP) ad libitum.

As éguas receptoras de embrião (n = 85) e as éguas da inseminação artificial (n = 240) foram mantidas em piquetes formados por capim pangola (*Digitaria decubens*), sendo suplementadas com 4 kg/dia de ração comercial (Corcelina - Purina[®]/São Lorenço da Mata-PE), além de água e sal mineral (Coequisalplus – Tortuga/São Paulo-SP) ad libitum.

Todas as fêmeas foram submetidas ao exame de palpação retal com auxílio de ultra-som (Aloka SSD 500 – Tóquio/Japão) para determinação do estro e controle da ovulação em dias alternados. A sincronização do ciclo estral entre doadoras e receptoras, com aplicação de prostaglandina (Lutalyse-Pharmacia/São Paulo), foi realizada conforme proposição de Squires et al. (1985), buscando um intervalo de -1 até +3 dias da ovulação da receptora em relação à ovulação das doadoras (Figura 1).

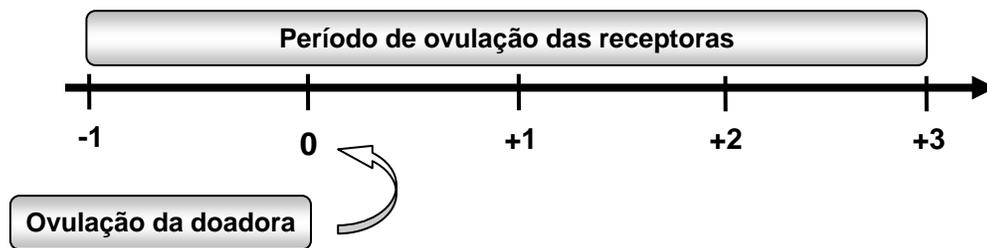


Figura 1. Estratégia de sincronização para transferência de embrião.

A partir da detecção do estro, tanto as fêmeas da inseminação artificial quanto as doadoras foram inseminadas até a ovulação em dias alternados, com dose de 500×10^6 espermatozóides viáveis.

A lavagem uterina das doadoras foi realizada no oitavo dia após ovulação, pelo método aberto, introduzindo-se a sonda (BIVONA – St. Paul/Minnesota) até o corpo do útero para

fixação do balão nas paredes. As lavagens foram implementadas, utilizando-se 3 litros de solução Ringer-Lactato dividida em 3 frações (Fleury, 1998). Após o término da última lavagem, o balão foi esvaziado e a sonda retirada. O conteúdo do filtro foi depositado em placas de petri para o rastreamento das estruturas em lupa estereoscópica, como sugerido por Oguri & Tsutsumi (1980). Imediatamente após a colheita, as doadoras receberam uma dose de PGF_{2α} (Lutalyse – Farmácia/São Paulo), via intramuscular, para indução da luteólise.

O embrião foi transferido para uma placa de petri contendo meio de cultura (TQC – Nutricell, Nutrientes LTDA/Campinas-SP). Sob lupa estereoscópica foi avaliado quanto ao seu estágio de desenvolvimento e sua qualidade morfológica. Somente aqueles classificados entre grau I e III foram transferidos para as receptoras num período de tempo de até três horas conforme recomendação de McKinnon et al. (1993).

Os diagnósticos de gestação foram realizados no 15º dia após a ovulação nas fêmeas artificialmente inseminadas e no 7º dia após a transferência do embrião através de palpação retal com auxílio da ultra-sonografia, sendo todas monitoradas nos dias 20, 25, 30 e 45 de gestação para avaliação de possível perda embrionária.

O número de gestações e perdas embrionárias detectadas foram as variáveis estudadas. Os dados foram dispostos de acordo com a biotecnologia empregada e período de gestação em que ocorreu a reabsorção. Os resultados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado, considerando a probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

Das 240 éguas artificialmente inseminadas foram obtidas 879 gestações, sendo que 94 (10,7%) delas resultaram em perda embrionária/fetal entre o 16º e o 45º dia da gestação (Tabela

1). Resultados de perda embrionária/fetal também foram encontrados por outros autores, sendo de 12,5% entre o 14° e o 56° de gestação (WOODS et al., 1987), de 8,5% entre o 11° e 50° dia (DUARTE et al., 2002) e de 4,6% entre o 16° e o 45° dia de gestação (WEISS et al., 2003). Perda embrionária da ordem de 13,3% entre o 10° e o 30° dia de gestação foi descrita por Lopes et al (1993) e de 6,8% no mesmo intervalo foi relatada por Ferreira et al. (1999). A diversidade de resultados entre os autores é provavelmente devido a adoção de práticas diferenciadas de manejo, de nutrição, de estresse edáfo-climático, além da heterogeneidade de composição do rebanho.

Quanto ao período de gestação em que ocorreu a perda embrionária foi constatada uma queda significativa ($P < 0,05$) do 31° ao 40° dia de gestação em relação ao período compreendido entre o 16° e o 30° dia. Este dado corrobora, em parte, os de Ferreira et al. (1999) e os de Duarte et al. (2002), os quais observaram uma maior porcentagem de perda até o 20° dia. Autores como Bouie e Bouie (1976) e Blue (1981) acreditam que a perda embrionária precoce pode ser devido à senilidade de gametas que formam embriões com anomalias cromossômicas e morfológicas, resultado que também pode ser explicado considerando-se uma provável adversidade do ambiente uterino ou mesmo da tuba uterina (GINTHER et al., 1985; BALL e WOODS, 1987).

Tabela 1 - Taxas de perda embrionária/fetal após a inseminação artificial.

Período de gestação (dias)	Inseminação artificial		
	Prenhez N	Perda embrionária/fetal	
		n	%
16 a 20	879	37 ^a	4,2
21 a 30	879	39 ^a	4,4
31 a 45	879	18 ^b	2,0
Total	879	94	10,7

Letras diferentes em mesma coluna representam diferença significativa para teste do X^2 ($P < 0,05$)

Das 338 gestações resultantes da transferência de embrião, 40 (11,7%) delas resultaram em perda embrionária/fetal (Tabela 2), resultado inferior aos 23,0% de Wilson et al. (1987), 17,0% de Wade et al. (1989) e aos 15,5% de Carnevale et al. (2000). Acredita-se que esta baixa porcentagem de perda embrionária/fetal no grupo de transferência de embrião deveu-se a utilização exclusiva de estruturas classificados entre grau I e III, conforme orientação de Mckinon et al. (1998).

Quanto ao momento em que ocorre a perda embrionária/fetal, observou-se existir aumento ($P < 0,05$) somente após o 20º dia de gestação, achado que corrobora o verificado por Carnevale et al. (2000), que em seu estudo registrou maior perda entre o 17º e o 25º dia de gestação. Neste trabalho, as perdas embrionárias do programa de transferência foram mais tardias, provavelmente, devido ao retardo na implantação do embrião, justificativa baseada no relato de Taveiros et al. (2003), os quais registraram desenvolvimento mais lento da vesícula germinativa, possivelmente associada ao crescimento do embrião até o 30º dia de gestações resultantes de transferência. O resultado aqui obtido pode ser explicado pelos mesmos motivos expostos quando da perda embrionária/fetal no grupo de fêmeas artificialmente inseminadas.

Tabela 2 - Taxas de perda embrionária/fetal após a transferência de embrião.

Período de gestação (dias)	Transferência de embrião		
	Prenhez N	Perda embrionária/fetal	
		n	%
16 a 20	338	8 ^a	2,4
21 a 30	338	21 ^b	6,2
31 a 45	338	11 ^{ab}	3,3
Total	338	40	11,8

Letras diferentes em mesma coluna representam diferença significativa para teste do X^2 ($P < 0,05$)

Na literatura consultada, não foi encontrada qualquer referência comparando perda embrionária/fetal de gestações provenientes de inseminação artificial com a de transferência de embrião. Neste trabalho não foi constatada diferença significativa ($P > 0,05$) entre as perdas embrionárias ocorridas na inseminação artificial e na transferência de embrião, indicando que após ocorrer à implantação e o desenvolvimento embrionário, as causas de perdas independe da técnica reprodutiva utilizada.

Tabela 3 - Taxas de reabsorção fetal em Inseminação artificial e transferência de embrião.

Biotecnologia	Prenhez N	Perda embrionária/fetal	
		n	%
Inseminação artificial	879	94	10,7
Transferência de embrião	338	40	11,8
Total	1217	134	11,0

Diferença não significativa para teste do X^2 ($p > 0,05$)

Os resultados permitem concluir que a perda embrionária precoce não está relacionada com a inseminação artificial ou com a transferência de embriões, desde que sejam adotadas práticas de manejo semelhantes para todas as fêmeas.

Referências

- ALONSO, M.A.; FLEURY, P.D.C.; NEVES NETO, J.R., MACHADO, M.S. Efeito da idade da égua doadora na taxa de perda embrionária. *Acta Scientiae Veterinariae*, 33 (Supl 1):204, 2005.
- BALL, B.A. LITTLE, T.V. HILLMAN, R.B. Pregnancy rate 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to day 14 in normal and subfertile mares. *Theriogenology*, v.26, p. 611-619, 1986.

BOUIE, J.G.; BOUIE, A. Chromosome anomalies in early spontaneous abortion their consequences on early embryogenesis. **Current topics in pathology**, v.62, p.193-208, 1976.

BLUE, M.G. A cytogenetical study of prenatal loss in the mare. **Theriogenology**, v.15, p.295-309, 1981.

CARNEVALE, E.M.; RAMIREZ, R.J.; SQUIRES, E.L.; ALVARENGA, M.A.; McCUE, P.M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **5th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE EMBRYO TRANSFER**, n.3, p.91-92, 2000.

DUARTE, M. B.; VIEIRA, R. C.; SILVA, F. O. Incidência e perda de prenhez até 50º dia em éguas Quarto de Milha. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.32, n.4, p. 643-647, 2002.

FERREIRA, J.B.P; PINHO, T.G; SANTOS, M.R.C. Incidência e caracterização ultra-sonográfica da morte embrionária em éguas da raça Campolina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p. 202-203, 1999.

FLEURY, J. J. Transferência não cirúrgica de embriões eqüinos colhidos no oitavo dia pós-ovulação. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.26, n.1, 1998.

FLEURY, J. J.; PINTO, A. J.; MARQUES, A.; LIMA, C.G.; ARRUDA, R.P. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em eqüinos da raça Mangalarga. .

GINTHER, O.P. In: GINTHER, O.P. **Ultrasound imaging and reproductive events in the mare**. Madison: Equiservice, 1985. 377p.

LOPES, M.D; PAPA, F.O; PRESTES, N.C. Morte embrionária precoce em éguas : Aspectos clínicos e hormonais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, X, 1993, **Anais...** Belo Horizonte: CRBA, 1993. v.2, p.231-380.

MEIRA, C.; ALVARENGA M.; PAPA F. O. et al. Cryopreservation of equine embryos using glicerol and 1,2 propanoediol as cryoprotectantes. **Equine Veterinary Journal**, v.15, p.64, 1993.

McKINNON, A. O.; VOSS, J.L.; JAMES, L. **Equine Reproduction**. Pennsylvania, Lea & Ferbigen, ed.1, 1993, 1137p.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES , E.L; VOSS , J.L et al. Equine embryo transfer – a review. **Practice Veterinary**, v. 10 , p.34, 1998.

OGURI, N e TSUTSUMI , Y. Non – surgical recovery of equine eggs , and a attempt at non-surgical egg transfer in horses. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.31, p.187-195, 1972.

PALMER, E e DRIANCOURT, A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13,p.203 – 216 , 1980 .

TAVEIROS, A.W; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. Diferentes receptoras na transferência de embriões eqüinos Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.391-393 , 1999.

TAVEIROS, A.W. Transferência de embriões eqüinos da raça Mangalarga Marchador. **Dissertação de Mestrado – Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife, 42p, 2000.

TAVEIROS, A.W.; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F.; TENÓRIO FILHO, F.; BARTOLOMEU, C.C.; SANTOS, M.H.B. OLIVEIRA, L.R.S. Ultrasonographic monitoring of 103 recipient mares

of different reproductive status during the first 30 days after embryo transfers. **Veterinary Record**, v.153, p.558-560, 2003.

TESTA, A.C.; CARMO, M.T.; ALVARENGA, M.A. Perda embrionária precoce em éguas receptoras de embrião em anestro tratadas com progesterona de longa duração. **Acta Scientiae Veterinariae**, 33 (Supl 1):198, 2005.

WADE, J; GALLAGHER, M; GORDON, I . Equine embryo transfer in Ireland from research into commercial practice. **Equine Veterinary Journal** , v.8, p .76, 1989.

WILSON, J.M; ROWLEY, W.K . Suscessfull non-surgical transfer of equine embryos to post – partum lactanting mares. **Theriogenology**, v.27, n.1, p.295 , 1987.

WOOD, G.L ; BAKER , C.B ; BALDWIN , J.L . Early pregnancy loss in the brodmares. **Journal of Reproduction and Fertility** ,Suppl 35 , p 455-459 , 1987.

UTILIZAÇÃO DO ULTRA-SOM PARA SEXAR FETOS EQUÍNOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR PELA VISUALIZAÇÃO DO TUBÉRCULO GENITAL E DA GENITÁLIA EXTERNA

(Use of the ultrasound to sexing fetuses of Mangalarga Marchador breed by visualization of genital tubercle and external genitalia)

Adriana Wanderley Taveiros¹, Paula Roberta Motta Melo², Pedro Paulo Machado¹, Leopoldo Mayer Freitas Neto¹, Maico Henrique Barbosa Santos³, Paulo Fernandes Lima¹, Marcos Antonio Lemos Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. 52171-900 Recife-PE/Brasil.

²Médica Veterinária Autônoma.

³Bolsita (BFP) da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Rua Benfica, 150, Madalena, 50720 001 Recife-PE, Brasil.

Resumo

Neste trabalho objetivou-se diagnosticar precocemente o sexo de fetos equínos (n = 157) da raça Mangalarga Marchador por ultra-som, identificando-se a posição final do tubérculo genital ou visualizando-se as estruturas anatômicas da genitália externa. Os exames foram realizados em dias alternados, por via transretal, entre o 58º e o 69º, bem como entre o 90º e o 150º dia de gestação. As éguas foram artificialmente inseminadas no dia da ovulação, o qual foi considerado como o dia 0 da prenhez. O diagnóstico de gestação foi realizado no 15º dia após a ovulação. Não foi observada diferença ($P > 0,05$) na acurácia da sexagem entre feto macho (95,6%) e fêmea (91,4%). Todavia, foi verificado que a acurácia do exame realizado apenas com base no tubérculo genital (90,1%) é menor ($P < 0,05$) do que a do exame efetuado considerando as estruturas da genitália externa (93,7%). Os resultados permitem concluir que o ultra-som é um método apropriado para diagnosticar precocemente o sexo fetal através da identificação da posição final do tubérculo genital, especial pela visualização de estruturas natômicas da genitália externa.

Palavras chaves: equino, gestação, bolsa escrotal, prepúcio, tetas, clitóris.

Abstract

This aim of this study was to diagnostic previously the gender of equine fetuses (n = 157) of Mangalarga Marchador by ultra-sound, identifying the final position of the genital tubercle or viewing the anatomical structures of external genitalia. The exams were realized in alternate days, by via transrectal, between 58° and 69°, as well as between 90° and 150° day of pregnancy. The mares were artificially inseminated on the ovulation day and this day was considered as pregnancy day (Day 0). The pregnancy diagnosis was performed on the 15° day after ovulation. There was not observed difference ($P > 0.05$) on the fetal sexing accuracy between male (95.6%) and female fetuse (91.4%). However, was verified that the accuracy of the exam realized takin into consideration the genital tubercle (90.1%) was lower ($P < 0.05$) than exam made takin into consideration the genital structures (93.7%). The results allow to conclude that the ultrasound is a suitable method to early diagnostic the fetal sex by identification of final position of genital tubercle, especially by visualization of anatomical structures of external genitalia.

Keywords: equine, pregnancy; scrotal bag, prepuce, nipples, clitoris.

Introdução

A atual exploração de eqüinos encontra-se inserida num contexto restrito aos grandes e seletos criatórios que adotaram a pesquisa e a seleção genética como verdadeiros pilares de sustentação desses criatórios (TAVEIROS, 2000). Assim, técnicas como inseminação artificial, superovulação e transferência de embrião, por permitirem uma seleção genética mais acelerada de indivíduos, vêm sendo utilizadas em larga escala (FLEURY et al., 1998). O ultra-som é uma ferramenta importante no diagnóstico precoce de gestação em eqüinos desde a década de 80 em países desenvolvidos (DUARTE et al.,2002), mas no Brasil sua utilização teve início somente na

década de 90 (FLEURY et al.,1998; ALVARENGA et al., 2000; TAVEIROS et al., 2003). Do mesmo modo, a identificação precoce do sexo genital foi previamente realizada na Europa (MERKT et al., 1999) e nos Estados Unidos (McKINNON et al., 1992) com animais das raças Hanoveriana e Puro Sangue Inglês. No Brasil foi realizada com éguas da raça Mangalarga Marchador objetivando apenas avaliar a acurácia de um único exame transretal (DIAS, 2007).

O objetivo da sexagem fetal pelo ultra-som varia de acordo com o período de gestação. Entre o 55° e o 90° dia, a identificação do sexo é baseada no posicionamento do tubérculo genital e a partir deste período é fundamentada na identificação das estruturas da genitália externa, podendo ser realizado por via transretal (CURRAM e GUINThER, 1993; HOLDER, 2003; BUCCA, 2005) ou transabdominal (RENAUDIM, 1997). A sexagem fetal visualizando-se o tubérculo genital é muito utilizada devido à precocidade do diagnóstico (SANTOS et al., 2005/2006ab/2007abcdefg).

Quando o diagnóstico tem por base a visualização das estruturas da genitália externa, o intervalo indicado está entre o 90° e o 150° dia de gestação (ALI, et al., 2004 SAMPER et al., 2007; HOLDER et al., 2000). Todavia, o intervalo ideal está compreendido entre o 110° e o 150° dia em razão da dificuldade de distinguir essas estruturas e após esse intervalo o exame é torna-se mais difícil em função da localização mais cranial do útero (RENAUDIM, 1997; RENAUDIM et al., 2000). Os maiores equívocos na identificação do sexo de fetos na espécie eqüina ocorre nas fêmeas em decorrência de algumas estruturas hiperecogênicas localizarem-se próximo a cauda e dificultarem a visualização precisa do tubérculo genital (MERKT et al., 1999).

Apesar do potencial de ser incorporada na rotina de campo pela capacidade de agregar valor ao diagnóstico de gestação, a sexagem fetal na espécie eqüina continua pouco difundida nos criatórios devido à baixa tolerância das éguas ao exame, ao pequeno intervalo para diagnosticar o sexo pela visualização do tubérculo genital e a própria carência de profissionais capacitados

(DIAS, 2007; SAMPER et al., 2007). Diante do exposto, teve-se o objetivo de avaliar a eficiência do diagnóstico do sexo de fetos eqüinos pela visualização do tubérculo genital e da genitália externa, bem como avaliar a eficiência do diagnóstico do sexo fetal entre machos e fêmeas.

Material e Métodos

Foram examinados 157 fetos eqüinos da raça Mangalarga Marchador resultantes de prenhez simples. O experimento foi conduzido na Fazenda Pedra Verde, localizada no Município de Limoeiro, Estado de Pernambuco. As éguas foram artificialmente inseminadas no dia da ovulação, o qual foi considerado como o dia 0 da prenhez. O diagnóstico de gestação foi realizado no 15º dia após a ovulação.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados por via transretal e pelo mesmo operador utilizando um aparelho Aloka 500 equipado com transdutor linear de 5 MHz. Após a deposição do gel na superfície onde estavam-se localizados os cristais piezelétricos, o transdutor foi colocado sob a mão e introduzido no reto da gestante. Após a localização do concepto e da definição da técnica do exame em conformidade com o plano ultra-sonográfico, dedicou-se especial atenção à região umbilical e aquela localizada entre os membros posteriores.

Os fetos foram monitorados em dias alternados, do 58º até o 69º dia de prenhez, para diagnosticar o sexo fetal com base na visualização do tubérculo genital e do 90º até o 150º dia foi levado em consideração às estruturas da genitália externa (Figuras 1 e 2).

No primeiro exame foi considerado feto macho aquele que apresentou o tubérculo genital situado imediatamente posterior ao cordão umbilical (Figura 1A), sendo este visualizado no plano horizontal ao eixo longitudinal do feto como uma estrutura bilobular hiperecólica. No plano horizontal ao eixo longitudinal do feto, o tubérculo genital foi visualizado como sendo uma estrutura bilobular hiperecólica. A partir do 90º dia de gestação foi dada ênfase à visualização do

prepúcio e da bolsa escrotal. Nesses exames foi considerado como feto macho aquele em que o prepúcio, quando visualizado no plano horizontal ao eixo longitudinal do feto, mostrou-se como uma estrutura triangular na região ventral do abdômem (Figura 1B). No plano transversal, o testículo foi evidenciado como uma estrutura oval entre os membros posteriores (Figura 1C).

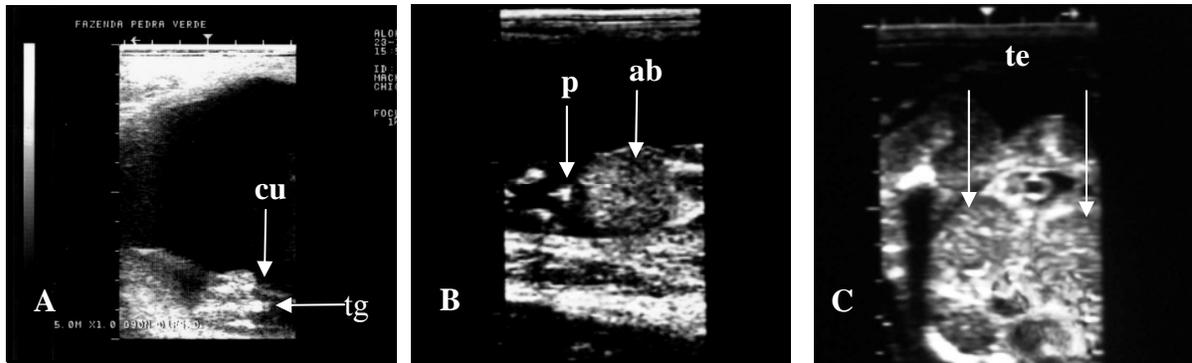


Figura 1 - Imagens de feto macho (A, B, C) mostrando o tubérculo genital (tg), cordão umbilical (cu), abdômem (ab), prepúcio (p) e testículo (te).

Foi diagnosticado como feto fêmea aquele que não apresentou as estruturas anatômicas anteriormente descritas e que evidenciou o tubérculo genital posicionado próximo da cauda (Figura 2A) ou as tetas situadas entre os membros posteriores (Figura 2B), ou o clitóris imediatamente abaixo da cauda (2C). As tetas foram visualizadas como pequenas estruturas hiperecóicas tanto no plano horizontal quanto no transversal.

Uma semana antes do previsto para a parição, os animais foram diariamente observados visando identificar sinais de parto eminente. Aos primeiros sinais, a frequência de observações foi aumentada com a finalidade de acompanhar e documentar cada parto. Imediatamente após, o número e o sexo e o peso dos recém-nascidos foram devidamente anotados.

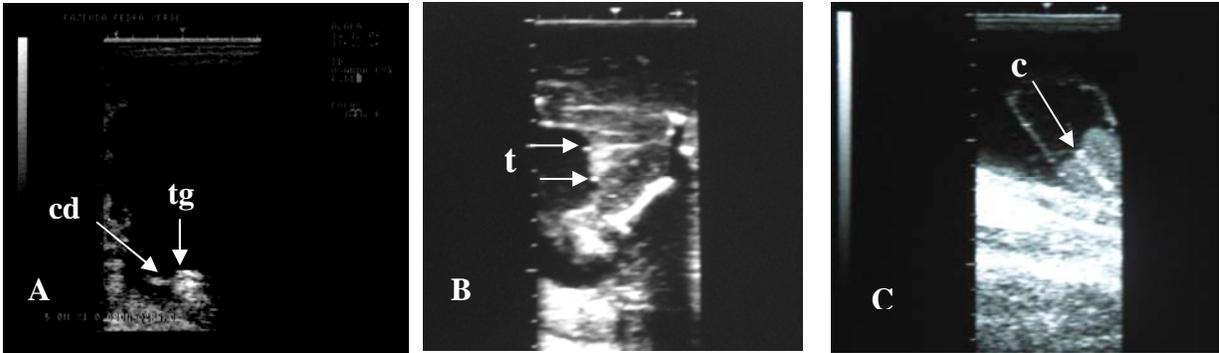


Figura 2 - Imagens de feto fêmea (A, B, C) evidenciando o tubérculo genital (tg), cauda (cd), tetas (t) e clitóris (c).

A eficiência da sexagem fetal entre feto macho e fêmea, bem como entre a visualização do tubérculo e da genitália externa foi calculada do teste de Qui-Quadrado, com probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

Foram diagnosticados o sexo de 126 fetos (80,3%) de um total de 157 avaliados. Dos 31 restantes (19,7%), não foi possível diagnosticar o sexo em consequência do temperamento inquieto de algumas éguas ao exame que dificultava ou mesmo impedia a manipulação do útero onde encontravam-se o embrião ou o feto. O índice de sexagem fetal deste trabalho não diferiu dos 89,0% obtidos por Mari et al. (2002) e tampouco dos 82,6 % constatados por Dias (2007), salientando-se que essa autora complementava a avaliação utilizando as imagens gravadas em DVD.

A acurácia do diagnóstico do sexo fetal, comprovado após o nascimento das crias, foi de 93,7% (Tabela 1), resultado semelhante aos 85% descritos por Holder (2000), aos 89,6 % relatados por Bucca et al. (2005), aos 92,0% registrados por Renadium et al. (2007) e aos 90% obtidos por Samper et al. (2007). Avaliando ainda a Tabela 1 é possível verificar que apesar da

diferença numérica, a eficiência da sexagem não diferiu ($P > 0,05$) entre fetos machos e fêmeas, resultado contrário aos de Muller e Wittowski (1986), Curran et al. (1989), Merkt et al. (1999), Mari et al. (2002), Ali (2004) e Dias (2007). Entretanto, é importante salientar que na prática foi constatada uma maior dificuldade em diagnosticar feto fêmea, observação que respalda os dados de Merkt et al. (1999), Ali (2004) e Samper (2007), os quais também comentaram que o tubérculo genital da fêmea não é facilmente visualizado em todos os planos, sendo mais favorável o transversal oblíquo. Já nos fetos machos esses autores reportam não ser encontrada essa dificuldade, uma vez que o tubérculo genital está localizado próximo à região abdominal, não havendo muitas estruturas ecogênicas para confundir o operador. Além do que foi exposto, é interessante ressaltar que, tanto as observações desses autores quanto as deste trabalho, permitem a afirmação de que o posicionamento da cauda entre os membros posteriores pode dificultar ou mesmo impedir a visualização do tubérculo genital do feto fêmea, além de uma maior quantidade de estruturas hiperecogênicas localizadas na região pélvica que também dificulta o exame.

Tabela 1 – Eficiência da sexagem de fetos machos e fêmeas.

Gênero Fetal	Exames n	Fetos sexados			
		Incorreto		Correto	
		n	%	n	%*
Macho	68	3	4,4	65	95,6
Fêmea	58	5	8,6	53	91,4
Total	126	8	6,3	118	93,7

* $\chi^2 = 0,36$ ($P > 0,05$)

Quanto ao período de gestação em que o diagnóstico do sexo fetal pode ser realizado (Tabela 2) foi observado que ele é mais eficiente ($P < 0,05$) quando o exame é efetuado mais tardiamente, do 90° ao 150° dia de gestação, tendo por base as estruturas da genitália externa do

feto. Esse resultado já era esperado em decorrência da identificação do gênero do feto ser fundamentada num maior número de estruturas da genitália externa, bem como em função do tamanho dessas estruturas nesse período gestacional. Adicionalmente, faz-se necessário ressaltar que tanto os equívocos de diagnóstico quanto a não visualização do tubérculo genital foram obtidos nos fetos fêmeas. Além do que foi anteriormente comentado é fundamental esclarecer que a distância a ser percorrida pelo tubérculo genital no feto fêmea, do seu posicionamento inicial até o final, é bem menor do que no feto macho. Conforme ponderação de Santos et al. (2005/2006ab/2007abcdefg), se essa diferença é difícil de ser visualizada em fetos obtidos em matadouro, num feto com, aproximadamente, 60 dias de idade é uma tarefa mais árdua de ser corretamente concretizada utilizando apenas imagens ultra-sonográficas em tempo real. Por essa razão e em virtude de retardo na migração do tubérculo genital é que fetos são equivocadamente diagnosticados como fêmeas.

De um modo geral a porcentagem de acerto aqui obtida pode ser considerada como semelhante a 92% relatada por Renadium et al. (2002), a de 99% obtida por Samper et al. (2007) e a de 82% reportada por Dias (2007).

Tabela 2 – Influência do período de gestação sobre a eficiência da sexagem de fetos equinos.

Período de Gestação (dia)	Exames n	Fetos sexados					
		Não visualizado		Incorreto		Correto	
		n	%	n	%	n	%*
58° - 69°	157	26	16,6	13	9,9	118	90,1
90° - 150°	131	5	3,8	8	6,3	118	93,7
Total	157	31	19,7	8	6,3	118	93,7

* $\chi^2 = 18,97$ ($P < 0,05$)

Diante do abordado é possível concluir que a ultra-sonografia é um método apropriado para diagnosticar precocemente o sexo fetal através da identificação da posição final do tubérculo genital, especial pela visualização de estruturas natômicas da genitália externa.

O intervalo para visualização do tubérculo é entre o 58° e o 69°, sendo o melhor dia para visualização do tubérculo genital em éguas o 64° dia de gestação.

Na sexagem pela visualização das gônadas fetais se obtém índices mais elevados de eficiência e mesmo o intervalo sugerido pelos autores sendo de 90 a 150 dias de gestação só é possível distinguir as gônadas fetais com precisão a partir do 110° dia de gestação, onde neste experimento a visualização das gônadas foi melhor no 124° dia.

Referências

ALI, A. Effect of gestacional age and fetal position on the possibility and accuracy of ultrasonigraphic fetal gender determination in dairy cattle. **Reproduction in Domestic Animals**. v.39, p.190-194, 2004.

BUCCA, S. Equine fetal gender determination from mid- to advanced gestation by ultrasound. **Theriogenology**, v.64, p.568-571, 2005.

CURRAN, S; GINTHER, O.J. Ultrasonic diagnosis of equine fetal sex by location of the genital tubercle. **Journal Equine Veterinary Science**, v.9, p.77-83, 1989.

CURRAN, S; GINTHER, O.J. Ultrasonic gender fetal diagnosis during months 5 and 11 in mares. **Theriogenology**, v.40, n.6, p.1127-1135, 1993.

DIAS, L.M.K. **Diagnóstico de Gestação , quantificação e sexagem fetais por meio de ultrasonografia convencional em éguas e ovelhas.** 2007, 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) Lavras: Universidade Federal de Lavras.

DUARTE, M.B. , VIEIRA, R.C. , SILVA, F.O. . Incidência e perda de prenhez até o 50º dia em éguas Quarto de Milha. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.32, n.4, p.643-647, 2002.

GINTHER, O.P. In: GINTHER, O.P. Ultrasound imaging and reproductive events in the mare. Madison: **Equiservice**, 1985. p.37, 1993.

HOLDER, R.D. Fetal sex determination in the mare between 55 and 150 days gestation. **AAEP Proceedings** , v.46 , p.321-324 , 2000.

MARI, G; CASTAGNETTI, C.; BELUZZI, S. Equine fetal sex determination using a single ultrasonic examination under farm conditions. **Theriogenology**, v.58, p.1237–1243, 2002.

MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L.; SQUIRES, E.L.; VERNALE, E.M. Diagnostic of ultrasonography. **In: Equine Reproduction.** Eds A.o McKinnon, J.L,Voss, Philadelphia, Lea & Febiger, 1992. p.266-302.

MERKT, H; MOURA, J.C; Gender determination in equine foetuses between 50 and 90 days of gestation. **Journal Equine Veterinary Science**, v.19, n.2, p.90-94, 1999.

RENAUDIN, C.D; GILLIS, C.L; TARANTAL,A.F. Transabdominal combined transrectal ultrasonographic determination of equine fetal gender during midgestation. **AAEP proceedings** 1997, v.43, p.252-255.

RENAUDIN, C.D. Ultrasonographic Determination of Equine Fetal Gender, **Internacional Veterinary Information service**, Ithaca, New York, USA, 2000.

SAMPER, J.C; PYCOCK, J. F.; MCKINNON, A. O. Fetal sex determination. Current therapy in equine reproduction, Published **Elsevier**, p.343 – 356, 2007.

SANTOS, M.H.B; AGUIAR FILHO, C.R.; FREITAS NETO, L.M. et al. Sexagem precoce de fetos caprinos da raça Toggenburg pela ultra-sonografia transretal. **Medicina Veterinária**, v.1, p.48-54, 2007a.

SANTOS, M.H.B.; CHIAMENTI, A.; AGUIAR FILHO, C.R. et al. Utilização da ultrasonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa. **Veterinária e Zootecnia**, v.12, n.1/2, p.52-60, 2005.

SANTOS, M.H.B.; GONZALEZ, C.I.M.; BEZERRA, F.Q.G. et al. Sexing of Dorper sheep derived from mating and embryo transfer by ultrasonography. **Reproduction, Fertility and Development**, v.19, p.366-369, 2007b.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., AGUIAR FILHO, C.R., CHAVES, R.M., NEVES, J.P.; LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Fetal sexing by ultrasonography identifying the genital tubercle or external genitalia of American Alpine goats. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, p.325-332, 2007c.

SANTOS M.H.B.; MORAES, E.P.B.X.; AGUIAR FILHO, C.R. et al. Early fetal sexing of goats by use of transrectal ultrasonography to identify the genital tubercle and external genitalia. **American Journal of Veterinary Research**, v.69, p.1-4, 2007d.

SANTOS M.H.B.; MORAES, E.P.B.X.; AGUIAR FILHO, C.R. et al. Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats. **Research in Veterinary Science**, v.83, p.251-255, 2007e.

SANTOS, M.H.B. et al. Determination of the genital tubercle migration in Morada Nova sheep fetuses by ultrasonography. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, p.214-217, 2007f.

SANTOS, M.H.B.; MORAES, E.P.B.X.; CHIAMENTI, A. Determination of the genital tubercle migration period to early sexing sheep fetuses of Damara, Saint Ines and 3/4 crossbred Damara-Saint Ines. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, p.11-117, 2007g.

SANTOS, M.H.B.; MORAES, E.P.B.; GUIDO, S.I. et al. Sexagem fetal em ovelhas Santa Inês por ultra-sonografia. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.573-578, 2006a.

SANTOS, M.H.B.; MOURA, R.T.D.; CHAVES, R.M. et al. Early fetal sexing of Boer goat by transrectal ultrasonography. **Animal Reproduction**, v.3, n.3, p.371-375, 2006b.

TAVEIROS, A.W. **Transferência de embriões eqüinos da raça Mangalarga Marchador**. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Programa da Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2000, 42p.

TAVEIROS, A.W.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F.; TENÓRIO FILHO, F.; BARTOLOMEU, C.C.; SANTOS, M.H.B. OLIVEIRA, L.R.S. Ultrasonographic monitoring of 103 recipient mares of different reproductive status during the first 30 days after embryo transfers. **Veterinary Record**, v.153, p.558-560, 2003.