

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

**PERDA DO CONCEITO DE ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA
MARCHADOR EM DIFERENTES *STATUS* REPRODUTIVOS APÓS A
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES**

Marcelo Cavalcanti Rabelo

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

**Recife-PE
2009**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Marcelo Cavalcanti Rabelo

**PERDA DO CONCEITO DE ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA
MARCHADOR EM DIFERENTES *STATUS* REPRODUTIVOS APÓS A
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES**

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
2009**

Ficha catalográfica

R114p Rabelo, Marcelo Cavalcanti
Perda do conceito de éguas da raça mangalarga
marchador em diferentes *status* reprodutivos após a
inseminação artificial e transferência de embriões /
Marcelo Cavalcanti Rabelo. -- 2009.
60 f. : il.

Orientador: Marcos Antônio Lemos de Oliveira.
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento
de Medicina Veterinária, Recife, 2009.
Referências.

CDD 636.08926

1. Eqüinos
2. Período gestacional
3. *Status* reprodutivos
4. Faixa etária
5. Transferência de embriões
6. Gestação
 - I. Marcos Antônio Lemos de Oliveira,
orientador
 - II. Título

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

**PERDA DO CONCEITO DE ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA
MARCHADOR EM DIFERENTES *STATUS* REPRODUTIVOS APÓS A
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES**

Tese de Doutorado elaborada por

MARCELO CAVALCANTI RABELO

Aprovada pela

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marcos Antonio Lemos de Oliveira
- Professor Orientador -

Jairo Pereira Neves
- Examinador -

Maico Henrique Barbosa dos Santos
- Examinador -

Paulo Fernandes de Lima
- Examinador -

Karen Mascaro Gonçalves da Silva
- Examinadora -

Adriana Wanderley Taveiros
- Examinadora -

Recife – 2009

*“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
Qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”*

(Francisco Cândido Xavier)

*“O Senhor é meu pastor, nada me faltará.
Ainda que eu atravessasse o vale escuro,
nada temerei, pois estais comigo.”*

(Salmo 22/23)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo que tem proporcionado em minha vida, seja material e espiritual, estando ao meu lado em todas as situações, iluminando o meu caminho.

Aos meus pais, Albérico Rabelo e Maria Cavalcanti (*in memoriam*) pela oportunidade de obter uma formação profissional e pelo amor com que me educaram.

À minha esposa Lúcia e as minhas filhas Marcelle, Marília e Marluce pelo amor e carinho imprescindíveis que me dedicam, pela compreensão, apoio e motivação para que eu alcance sempre o melhor.

Ao professor Marcos Antônio Lemos de Oliveira, pela orientação, respeito, paciência e confiança depositada.

Ao professor Paulo Fernandes de Lima, pelos conselhos, orientações e exemplo de pessoa e profissional.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade de participação e conclusão deste curso.

À coordenação da Pós-Graduação em Ciência Veterinária e a todos os professores e funcionários que a compõe pela atenção, paciência e contribuição ao longo deste estudo.

Ao grupo da Pós-Graduação, Ricardo Chaves, Cristiano Rocha, José Monteiro, Edivaldo Rosas, Leopoldo Mayer e Filipe Bezerra, pelo apoio incondicional, companheirismo e amizade, sem eles nada seria concretizado.

À Adriana Taveiros e Paula Melo, pela organização dos dados, aprendizado, incentivo e experiências compartilhadas que resultou neste trabalho.

À Adriana Trindade, Érica, Maico e Melânia, agradeço a amizade, o apoio e incentivo.

Aos amigos da Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária (SARA), Ângelo Rafael, Gutemberg Maciel, Francisco Torres e Francisco Oliveira, pela amizade, companheirismos, profissionalismo, compreensão e apoio que contribuíram para conclusão deste curso.

Aos funcionários da UFRPE, Dona Sônia, Alcir, Joana, Guiomar e Ana Katarina (Biblioteca) pela ajuda, paciência e ao apoio durante todo o Doutorado.

Aos meus amigos e a todos que de alguma forma colaboraram.

Aos animais, que ajudaram de forma inconsciente e significativa para a realização deste estudo.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS.....	v
SUMÁRIO.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Aspectos da fisiologia reprodutiva da égua.....	14
2.2 Generalidades sobre inseminação artificial em equinos.....	15
2.3 Considerações sobre transferência de embriões em equinos.....	18
2.4 Uso da ultra-sonografia na reprodução equina.....	22
2.5 Aspectos relacionados à perda do concepto.....	24
3 REFERÊNCIAS.....	26
4 CAPÍTULO I.....	33
5 CAPÍTULO II.....	46

LISTA DE TABELAS

		Páginas
CAPÍTULO I		
Tabela 1	Perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador em função da faixa etária no período de 15 a 45 dias de gestação.	38
Tabela 2	Perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador conforme o <i>status</i> reprodutivo no período de 15 a 45 dias de gestação.	39
Tabela 3	Perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador de acordo com os diferentes períodos de gestação.	39
Tabela 4	Índices de perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador de acordo com a classificação do cio.	40
CAPÍTULO II		
Tabela 1	Taxas de prenhez diagnosticada no sétimo dia após a TE e de perda embrionária até o 30 ^o dia de gestação em receptoras Mangalarga Marchador, de acordo com o <i>status</i> reprodutivo.	54
Tabela 2	Taxas de prenhez diagnosticada no sétimo dia após a TE e de perdas embrionárias até o 30 ^o dia de gestação em receptoras Mangalarga Marchador função da faixa etária.	56
Tabela 3	Perdas embrionárias em receptoras da raça Mangalarga Marchador em diferentes períodos de gestação.	57

Título: Perda do concepto de éguas da raça Mangalarga Marchador em diferentes *status* reprodutivos após a inseminação artificial e transferência de embriões

Autor: Marcelo Cavalcanti Rabelo

Orientador: Marcos Antonio Lemos de Oliveira

Resumo

Foram realizados dois estudos para avaliar em éguas da raça Mangalarga Marchador, os fatores que influenciam a perda do concepto após a inseminação artificial (IA), considerando a faixa etária, o *status* reprodutivo e o período de gestação, bem como, as taxas de prenhez e perda embrionária de éguas em diferentes *status* reprodutivos utilizadas como receptoras em programas de transferência de embriões (TE). No primeiro estudo, foram monitoradas 320 gestações entre os anos de 2003 e 2006 compreendendo fêmeas nulíparas ($n = 52$), pluríparas não lactantes ($n = 112$) e pluríparas lactantes ($n = 156$). Os animais possuíam idade entre 4 e 16 anos. O diagnóstico de gestação por ultra-sonografia foi realizado no 15^o dia pós-ovulação, repetindo os exames no 20^o, 30^o e 45^o dia de prenhez. O índice total de perda do concepto foi de 9,06% (29/320). Com relação à faixa etária, as perdas de 8,06% (5/62), 6,58% (10/152) e 13,21% (14/106) para fêmeas com menos de 5 anos, de 5 a 10 anos e de 11 a 16 anos, respectivamente, não evidenciaram diferenças significativas ($P > 0,05$). Quanto ao *status* reprodutivo, perdas de 5,77% (3/52), 9,82% (11/112) e 9,61% (15/156) para fêmeas nulíparas, pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes, respectivamente, também não mostraram diferenças significativas ($P > 0,05$). No que se refere ao período gestacional, o índice de perda do concepto foi mais significativo ($P < 0,05$) no período de 15 a 20 dias de gestação. Não foi evidenciada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os índices de perdas do concepto das éguas inseminadas no cio do potro 8,97% (7/78) e daquelas inseminadas no cio subsequente 10,26% (8/78). Com base nos dados deste estudo foi possível concluir que o *status* reprodutivo e a faixa etária não influenciam as taxas de perdas do concepto, porém, no período entre a 2^a e 3^a semana de gestação, as éguas estão mais susceptíveis a essas perdas. No segundo estudo, entre os anos de 2004 e 2005, foram utilizadas 10 éguas pluríparas como doadoras de embriões e como receptoras, 21 fêmeas nulíparas, 20 pluríparas lactantes e 20 pluríparas não lactantes. As colheitas embrionárias foram realizadas no 8^o dia após a ovulação das doadoras e os embriões imediatamente transferidos para as receptoras. Os diagnósticos de gestação por ultra-sonografia foram realizados no 7^o dia após as TE, repetindo os exames nos

dias 20, 25 e 30 da gestação. O total de prenhez diagnosticada no 7^o dia após a TE e de perda embrionária no 30^o dia de gestação foram 67,21% (41/61) e 39,02% (16/41), respectivamente. Com relação ao *status* reprodutivo, as taxas de prenhez e de perda embrionária, não evidenciaram diferenças significativas ($P > 0,05$). Quanto à faixa etária, as fêmeas com mais de 11 anos exibiram taxa de prenhez menor ($P < 0,05$) do que às de faixas entre 6 e 8 anos e entre 9 e 11 anos e apresentaram perda embrionária significativamente maior ($P < 0,05$) do que as de faixa inferior. Com relação aos períodos gestacionais em que ocorreram a perdas embrionárias, não foram constatadas diferenças significativas ($P > 0,05$). Os dados obtidos neste estudo permitem concluir que éguas da raça Mangalarga Marchador independente do *status* reprodutivo podem ser utilizadas com êxito como receptoras em programas de TE, porém, não é recomendável, que fêmeas com idade acima de 11 anos sejam utilizadas para essa função.

Title: The conceptus loss in Mangalarga Marchador mares of different reproductive *status* after artificial insemination and embryo transfer

Author: Marcelo Cavalcanti Rabelo

Advisor: Marcos Antonio Lemos de Oliveira

Abstract

Two studies were performed to evaluate in Mangalarga Marchador mares, the factors that influence the concepts loss after artificial insemination (AI), considering the group age, the reproductive *status* and the gestational period and the rates of pregnancy and embryonic loss of mares in different reproductive condition used as recipients in programs for embryo transfer (ET). In the first study, was performed between the years 2003 and 2006 were monitored the pregnancies of 320 mares, including nulliparous female (n = 52), not lactating pluriparous (n = 112) and pluriparous in lactation (n = 156) aged between 4 and 16 years. The diagnosis of pregnancy by ultrasound was conducted by the 15th day after ovulation, repeating the tests on the 20th, 30th and 45th day of pregnancy. The total of conceptus loss was 9.06% (29/320). Concerning the age group, losses of 8.06% (5/62), 6.58% (10/152) and 13.21% (14/106) for females under the age of 5, 5 to 10 years and 11 to 16 years respectively showed no significant differences (P > 0.05). Concerning the reproductive *status*, loss of 5.77% (3/52), 9.82% (11/112) and 9.61% (15/156) for females nulliparous, pluriparous non lactants and pluriparous in lactation, respectively, also showed no significant differences (P > 0.05). Considering the gestational period, the concept loss was more significant (P < 0.05) in the period from 15 to 20 days of gestation. Were not observed significant differences (P > 0.05) between the pregnancy rates loss of the mares inseminated in the foal heat 8.97% (7/78) and those inseminated in subsequent estrus 10.25% (8/78). Based on data from this study were unable to conclude that the reproductive *status* and age group did not influence the rates of the concept loss, but, in the period between 2nd and 3rd week of gestation, the mares are more susceptible to these losses. In the second study, between the years 2004 and 2005 have been used pluriparous 10 mares as donors of embryos and recipients, 21 nulliparous females, 20 pluriparous in lactation and 20 not lactating pluriparous. On The 8th day after ovulation were performed the embryos recovered of the donors and immediate transfer to the recipients. The diagnosis of pregnancy by ultrasound was conducted by the 7th day after the ET, repeating the tests on days 20, 25 and 30 of pregnancy. The total pregnancy diagnosed in the 7th day after

ET and embryo loss in the 30th day of gestation was 67.21% (41/61) and 39.02% (16/41), respectively. With regard to the reproductive *status*, the rates of pregnancy and embryonic loss, did not show significant differences ($P > 0.05$). As for the age group, females with more than 11 years showed lower pregnancy rate ($P < 0.05$) than on the groups between 6 and 8 years and between 9 and 11 years old and embryo loss had significantly higher ($P < 0.05$) than those in the lower range. With regard to gestational periods in which the embryonic losses occurred were not found significant differences ($P > 0.05$). Data obtained in this study suggests that Mangalarga Marchador mares regardless of reproductive *status* can be used successfully as recipients in programs for ET, but, is not recommended that females aged over 11 years are used for this function.

1. INTRODUÇÃO

A equideocultura brasileira apresenta indicadores que, apesar de pouco conhecidos, são bastante representativos sob o ponto de vista econômico e social. Com um efetivo de 5,8 milhões de equinos, o Brasil possui o maior rebanho da América do Sul e o terceiro maior do mundo, ficando abaixo apenas do México e da China. Movimenta cerca de 7,5 bilhões de reais anuais, gerando 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (VILELA e ARAÚJO, 2006).

Embora não se tenha a cultura de consumir carne e derivados de equinos, o Brasil destaca-se como o oitavo país exportador de carne dessa espécie tendo abatido 205 mil animais em 2004, com um faturamento de 34 milhões de dólares. Sendo a Bélgica, Holanda, Itália, Japão e a França os principais países importadores de carne de cavalo brasileira (VILELA e ARAÚJO, 2006).

No Brasil, os principais propósitos da criação de equinos são a labuta diária nas atividades agropecuárias (principalmente no manejo de bovinos), uso militar, competições hípcas, esportes equestres (enduro, vaquejada, rodeio, adestramento etc.) e competições turfísticas (corridas de cavalo). Nesse contexto, diferente do que acontece na criação de outras espécies, o equino é selecionado, principalmente, pelo desempenho e conformação física e não com base em eficiências produtiva e reprodutiva (HAFEZ, 1995; VILELA e ARAÚJO, 2006).

Entretanto, a viabilização da equideocultura moderna requer avanços tecnológicos que incrementem a produtividade do rebanho, tornando-o mais competitivo tanto no cenário nacional quanto no internacional. Nesse sentido, o emprego de novas biotecnologias que propiciem a aceleração do melhoramento genético e aumento da produtividade como o uso da ultra-sonografia, inseminação artificial (IA), transferência de embriões (TE) entre outras, têm sido crescentemente utilizadas nessas duas últimas décadas (SQUIRES et al., 2003; LOSINNO e ALVARENGA, 2006).

Contudo, a perda precoce do concepto tem-se mostrado como maior fator de sub-fertilidade e de redução da eficiência reprodutiva em éguas, ocasionando grandes perdas econômicas para o criador (BALL, 1993; ROCHA et al., 2007).

Ball (1993) relata que a ocorrência de morte do concepto entre a fertilização e o 14^o dia é de 9% para éguas jovens e férteis e de 62 a 73% para éguas idosas e subférteis. Carnevale et al. (2000) ressaltam que a perda do concepto aumenta com a idade da égua.

Em éguas receptoras de embriões, Carnevale et al. (2000), Rocha et al. (2007) e Taveiros et al. (2008) observaram uma variação de 4,8 a 62% nas taxas de perdas do concepto

no período de 12 a 50 dias de gestação, sendo que a maior incidência ocorre entre a 2^a e a 3^a semana (CARNEVALE et al., 2000).

Diante do exposto, objetivou-se com este estudo avaliar em éguas da raça Mangalarga Marchador, fatores que influenciam a perda do conceito após a IA, considerando a faixa etária, o *status* reprodutivo e o período de gestação, bem como, as taxas de prenhez e perda embrionária de éguas em diferentes *status* reprodutivos utilizadas como receptoras em programas de TE.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos da fisiologia reprodutiva da égua

As éguas atingem a puberdade, em média, aos 18 meses de idade (SQUIRES, 1993b; HAFEZ, 1995; TAVEIROS, 2000), recebendo influências de fatores como ambiente, nutrição, época de nascimento, raça, manejo, sazonalidade e fotoperíodo (SQUIRES, 1993b; HAFEZ, 1995). São considerados animais poliéstricos estacionais por apresentarem atividade sexual durante o final da primavera, no verão e início do outono, entretanto, nas regiões equatoriais podem apresentar atividade sexual contínua (DAELS e HUGHES, 1993; HAFEZ, 1995). Sabe-se ainda que há uma variação sazonal do ciclo estral em éguas e que nem todas entram em anestro estacional no inverno (DAELS e HUGHES, 1993; DOWSETT et al., 1993).

A atividade sexual das éguas, além da nutrição e do clima é regulada principalmente pelo fotoperíodo (DAELS e HUGHES, 1993), onde a melatonina, produzida em maior quantidade durante o período de baixa luminosidade, inibe a produção dos hormônios hipotalâmicos-hipofisários para desencadear o anestro estacional (SHARP e CLEAVER, 1993).

O ciclo estral na espécie equina tem a duração média de 21 dias, sendo dividido em fase folicular (estro), variável de 4 a 7 dias e fase lútea (diestro) com duração de 14 a 15 dias (DAELS e HUGHES, 1993), ocorrendo a ovulação um a dois dias antes do fim do estro (DAELS e HUGHES, 1993; HAFEZ, 1995).

As gonadotrofinas adenohipofisárias, mesmo que, isoladamente, não exerçam influência sobre o crescimento dos folículos, são os seus reguladores primários (PIERSON, 1993). O crescimento folicular na égua é caracterizado pela ocorrência de dois tipos de ondas foliculares durante o ciclo estral, as ondas maiores ou ovulatórias, caracterizadas pela presença de folículos dominantes e subordinados e ondas menores, nas quais os folículos não

atingem o diâmetro do folículo dominante e regridem (BERGFELT e GINTHER, 1993; GINTHER, 2000).

As maiores ondas primárias emergem na metade do ciclo estral, resultando em estro acompanhado de ovulação, no entanto, as maiores ondas secundárias surgem no final do estro ou no início do diestro, podendo ocorrer ovulação ou regressão do folículo dominante. Embora a égua apresentando os dois tipos de ondas foliculares no mesmo ciclo estral, o que predomina é a ocorrência de uma maior onda primária (BERGFELT e GINTHER, 1993).

O aparecimento de ondas foliculares maiores e menores nas éguas está associado ao aumento das concentrações do hormônio folículo estimulante (FSH) que atinge seu pico quando o folículo maior alcança o diâmetro de 13 mm e diminuem dando início ao fenômeno de divergência folicular da onda ovulatória, que é caracterizado pelo crescimento contínuo do folículo maior da onda para se tornar folículo dominante e a redução ou cessão do crescimento dos demais folículos, denominados de subordinados (GASTAL et al., 1997; GINTHER, 2000).

O FSH é essencial ao desenvolvimento folicular (GINHTER, 2000). O declínio das concentrações de FSH é causado pelo aumento das concentrações de inibina e estradiol, produzidas pelos folículos em crescimento, dando início à fase de divergência folicular e, conseqüentemente, da dominância. Após a dominância, a inibina passa a ser produzida somente pelo folículo dominante (GINHTER et al., 2002).

Por outro lado, as concentrações circulatórias de hormônio luteinizante (LH) aumentam gradualmente durante o estro (McCUE, 1996). O LH é necessário para a continuação do crescimento, maturação e ovulação do folículo ovulatório na égua. No futuro folículo dominante, a quantidade de receptores de LH é maior do que nos outros folículos antes do início da divergência folicular (GINHTER et al., 2002).

2.2. Generalidades sobre inseminação artificial em equinos

A inseminação artificial é a biotécnica da reprodução mais utilizada e mais importante para o melhoramento genético das espécies, devido aos poucos machos selecionados produzirem espermatozóides para a inseminação de centenas de fêmeas por ano. Em contraste, poucos produtos podem ser obtidos de cada fêmea por ano, mesmo com o advento de novas biotécnicas, como a transferência de embriões e fertilização *in vitro* (HAFEZ, 1995; AX et al., 2000).

Dentre as diferentes biotecnologias da reprodução atualmente empregadas, a IA é a que demonstra a maior viabilidade econômica e facilidade na implantação, nas diferentes

espécies domésticas aonde seu uso já se tornou consagrado. Nas raças da espécie equina que permitem seu uso, esta vem sendo empregada com bons índices de fertilidade, além de proporcionar um menor desgaste do garanhão e possibilitar o progresso genético do plantel existente (WEISS et al., 2003).

Segundo Mies Filho (1987), o uso da IA acelera o melhoramento genético, viabiliza a obtenção de produtos de reprodutores alojados em outros países ou até mesmo dos que já morreram, evita a transmissão de doenças venéreas, facilita a realização de testes de progênie além de possibilitar que reprodutores subférteis produzam crias. Entretanto, para que se obtenha sucesso em programas de IA, são necessários alguns cuidados como a utilização de garanhões de boa qualidade, um bom controle sanitário e mão de obra especializada.

A inseminação convencional em éguas é realizada por via vaginal, na qual a mão enluvada do inseminador guia uma pipeta até a passagem da cérvix e o sêmen é depositado no corpo do útero ou na junção útero-tubárica do corno uterino ipsilateral ao ovário com o folículo ovulatório, devendo esta ser realizada o mais próximo possível da ovulação (MIES, 1987; PIMENTEL e CARNEIRO, 2008), que ocorre 24 a 48 horas antes do fim estro, o qual tem duração de quatro a sete dias (DAELS e HUGHES, 1993; HAFEZ, 1995).

Para detecção das éguas em estro é necessário a rufiação, e quando não é possível executar esta prática, faz-se necessário a realização de uma avaliação ginecológica por palpação retal para identificar a presença ou não de folículos e a consistência do útero, a fim de determinar em que fase do ciclo estral se encontra a égua (BRISKO e VARNER, 1993). O ideal é que se faça controle folicular com monitoramento ultra-sonográfico em programas de IA, a fim de prever a ovulação e decidir o melhor momento para inseminação, limitando assim o número de inseminações (BRISKO e VARNER, 1993; PIMENTEL e CARNEIRO, 2008).

Na maioria dos programas de IA, as éguas são inseminadas em dias alternados a partir do segundo ou terceiro dia do estro até que a ovulação seja detectada ou que a égua não mais evidencie estro (HAFEZ, 1995; PIMENTEL e CARNEIRO, 2008). Utilizando esse manejo, com um sêmen de garanhão de fertilidade comprovada, bons índices reprodutivos são alcançados quando a IA for realizada até 72 horas antes da ovulação. Entretanto, em IA realizada depois da ovulação, a fertilidade é satisfatória quando esse tempo não ultrapassar 6 horas, após esse período, há maior probabilidade de resultar em morte embrionária (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008).

A utilização da IA pode ser resumida em três formas: com sêmen fresco, sêmen refrigerado e sêmen congelado. A IA com sêmen fresco é realizada em um período menor que

12 horas após a colheita, sendo o sêmen mantido a temperatura ambiente (22°C). Como biologicamente o sêmen deve sair do trato genital do macho diretamente para o da fêmeas, em geral não há necessidade de diluidores. Mas, como o uso da IA requer a remoção dos gametas masculino do trato genital do macho por meio de colheita com vagina artificial, o sêmen é exposto a fatores estressantes, tornando-se vulnerável a fatores ambientais como temperatura, luz, traumas físicos e a uma variedade de produtos tóxicos ao gameta masculino. Por essas razões, torna-se necessário o uso de diluidores (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008).

Os diluidores de sêmen são soluções destinadas a proteger os espermatozoides de condições desfavoráveis e prolongar sua sobrevivência durante a refrigeração e o transporte, além de apresentarem a vantagem de aumentar o volume da dose inseminante e auxiliarem na análise do sêmen (BALL, 1998; NUNES et al., 2006).

Os diluidores devem ter capacidade tamponante, ser isomolar com plasma seminal, proporcionar fonte de energia, proteger contra choque térmico e ter capacidade antibacteriana. Os diluidores mais freqüentemente utilizados são variações da fórmula composta por 2,4g de leite em pó desnatado, 4,9g de glicose, 150.000 U.I. de penicilina G potássica, 150.000µg de estreptomicina cristalina e água deionizada q.s.p. 100mL (BRISKO e VARNER, 1993) ou ainda utilizando gema de ovo como um de seus componentes (HAFEZ, 1995). De acordo com Pimentel e Carneiro (2008), somente quando a IA for realizada por um período, após a colheita, menor do que cinco minutos, admite-se o uso de sêmen puro, não diluído.

O uso de sêmen refrigerado é a forma de IA em equinos que mais tem crescido nos últimos anos, principalmente após o desenvolvimento do Equitainer[®], bem como, dos modelos MSP[®]- 1 e 2, no Brasil, que são equipamentos idealizados para transporte de sêmen. Esses equipamentos permitem realizar resfriamento progressivo e fisiológico do sêmen cerca de 0,3°C/minuto (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008) e preservá-lo a temperatura entre 15 e 20°C ou entre 4 e 5°C (NUNES et al., 2006), com mínimos efeitos estressantes e deletérios aos espermatozoides, proporcionando aumento de sua longevidade fora do trato genital feminino de até 72 horas com capacidade fecundante (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008). Dessa forma, a IA com sêmen refrigerado vem sendo amplamente utilizada nas últimas décadas, mesmo antes de algumas associações de raças oficializarem a sua aplicação como método de acasalamento, pois muitos criadores evitam deslocar as éguas até o local onde se encontram os garanhões (NUNES et al., 2006).

O sêmen congelado é preservado em nitrogênio líquido a temperatura de -196°C por tempo indeterminado, porém na utilização dessa forma IA, ainda existem questões técnicas a serem solucionadas, como a variação individual frente à criopreservação, o baixo rendimento

de doses por ejaculado, o intenso manejo das éguas durante as inseminações, maior custo por prenhez, além da grande oscilação das taxas de prenhez em relação às obtidas com monta natural ou IA com sêmen a fresco ou refrigerado (BACKMAN et al., 2004).

As técnicas de congelação ainda não foram capazes de apresentar uma repetibilidade adequada em todos os garanhões (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008). De acordo com Pickett e Amann (1993) cerca de 30% dos garanhões, cujo sêmen se apresenta nos padrões de normalidade, não suportam a congelação.

O sêmen equino congelado e descongelado tem sua longevidade reduzida após a IA. Segundo Dobrinski et al. (1996), antes da fecundação, os espermatozóides se aderem às células epiteliais do oviduto (CEO), para que essa interação prolongue sua viabilidade no trato genital feminino. A aderência da membrana espermática às CEO previne a capacitação, prolongando a viabilidade espermática. Durante o processo de congelação e descongelação, discretas alterações na composição da membrana espermática reduzem a capacidade dos espermatozóides aderirem às CEO e, subseqüentemente, sua longevidade fica reduzida e a fertilidade prejudicada caso a IA não aconteça próxima à ovulação.

De acordo com Palmer (1993), a IA com sêmen congelado para ser viabilizada necessita de um intervalo menor do que 24 horas da inseminação para ovulação, ou mesmo de um período de 6 a 8 horas após a ovulação (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008). Nesse contexto, a IA deve ser realizada após o monitoramento folicular. Recomenda-se induzir a ovulação com a aplicação de 2.500 U.I. de gonadotrofina coriônica humana (hCG) por via intravenosa quando o folículo atinge 35mm de diâmetro (PIMENTEL e CARNEIRO, 2008). Dessa forma, as éguas ovulam entre 24 e 48 horas após o tratamento. Entretanto, devido à imunogenicidade, esse tratamento não deve ser realizado mais do que duas vezes no mesmo ano (PALMER, 1993).

2.3. Considerações sobre transferência de embriões em equinos

A utilização da TE em equinos tem aumentado muito nestas duas décadas em países como Argentina, Estados Unidos da América (EUA), França e Brasil, sendo o uso desta biotecnologia permitido pela maioria das associações de criadores de cavalos (SQUIRES et al., 2003; LOSINO e ALVARENGA, 2006).

A primeira TE na espécie equina que logrou sucesso foi realizada no Japão por Oguri e Tsutsumi (1972). No Brasil os primeiros relatos foram feitos por Henry et al. (1987) e Fleury et al. (1987).

O método da TE em equinos mais difundido atualmente é o não cirúrgico ou transcervical (JASKO, 2002). O método cirúrgico de colheita de embriões foi inicialmente descrito por Allen e Rowson (1972), sendo, geralmente, utilizado na recuperação de embriões em estádios iniciais de desenvolvimento e, em estádios mais avançados, a colheita transcervical pode ser realizada a partir do 5º ou 6º dia da ovulação (OGURI e TSUTSUMI, 1972).

As taxas de gestação após a TE pela técnica não-cirúrgica, apresentam resultados ruins (0%) como os citados por Oguri e Tsutsumi (1972, 1974) e bons (77%) como os reportados por Wilson et al. (1987). A vantagem da técnica não cirúrgica é que pode ser realizada a campo e com baixo custo (FLEURY et al., 2001).

Na atualidade, os métodos de colheitas de embrião mais utilizados são os descritos por Oguri e Tsutsumi (1974), Squires et al. (1982) e Squires (1993a), no quais, as colheitas embrionárias são realizadas entre o 6º e 8º dia após a ovulação. Todavia, Iuliano et al. (1985), Squires et al. (1985) e Fleury et al. (2001) demonstraram que a colheita somente deve ser realizada no 7º ou 8º dia após a ovulação, ressaltando-se que a idade do embrião não interfere na TE, desde que no máximo, estejam no 8º dia após a ovulação (McKINNON et al., 1988). Segundo Fleury e Alvarenga (1999), a colheita de embriões no 8º dia após a ovulação tende a aumentar a taxa de recuperação embrionária e diminuir a quantidade de trabalho envolvido no processo de TE devido à fácil visualização do embrião.

Na implantação de um programa de TE, vários fatores como o custo da técnica, histórico reprodutivo da égua, restrições do registro da raça e valor da cria devem ser levados em consideração (McKINNON et al., 1988). Sendo assim, somente devem ser consideradas como éguas doadoras as que apresentem patrimônio genético superior, fêmeas impossibilitadas de conceber por monta natural ou IA, incapazes de manter uma gestação a termo, éguas em treinamento e/ou competição, potras acima de dois anos de idade, bem como éguas com histórico de perda embrionária por problemas hormonais, endometriais e com defeitos adquiridos nos membros locomotores, além de éguas que tenham sido submetidas à cirurgia na região abdominal (SQUIRES et al., 1999; SQUIRES et al., 2003).

As doadoras também devem apresentar um ciclo estral regular e serem submetidas a exames de ultra-sonografia, citologia vaginal, biópsia endometrial e dosagem hormonal, antes de iniciar o programa de TE (SQUIRES et al., 1985; LOSINNO e ALVARENGA, 2006). O controle folicular e a rufiação devem ser efetuados diariamente e a IA ou monta natural devem ser implementadas em dias alternados, a partir de um folículo com 30mm de diâmetro até a constatação da ovulação (McKINNON e SQUIRES, 1988).

Um programa de TE deve manter uma relação de duas receptoras para cada doadora, ressaltando-se que a utilização de éguas paridas do próprio estabelecimento deve ser priorizada por apresentarem histórico reprodutivo conhecido (McKINNON et al., 1988; TAVEIROS, 2000).

Com relação às receptoras, além dos aspectos anteriormente comentados para as doadoras, essas devem apresentar bom escore corporal (HENNEKE et al., 1983), bem como, estarem livres de anormalidade uterinas e ovarianas como edema, cistos, tumores, fluidos ou ar uterinos, tumores ovarianos ou outras anormalidades ovarianas características (SQUIRES et al., 1999; LOSINNO e ALVARENGA, 2006).

As éguas ovariectomizadas também podem ser utilizadas como receptoras de embrião, desde que seja administrada progesterona por 120 ou 150 dias para manutenção da gestação (SQUIRES, 1993a).

De acordo com Sertich (1989) é recomendável a utilização de éguas nulíparas como receptoras em programas de TE, por apresentarem uma cérvix longa e fechada, denominada de funcionalmente competente, sendo também possível, o uso com sucesso de éguas em lactação a partir do 30º dia de parição (WILSON et al., 1987). Entretanto, Taveiros (2000) e Taveiros et al. (2003) ressaltam não haver diferenças entre os índices de fertilidade de éguas receptoras nulíparas, pluríparas lactantes ou pluríparas não lactantes.

O grau de sincronia entre doadora e receptora deve ser de menos (-) 1 a mais (+) 3 dias, condição esta que permite a ovulação da receptora desde 1 dia antes (-1) até 3 dias depois da doadora (McKINNON et al., 1988). Entretanto, Jacob et al. (2002) relatam não existir diferença na porcentagem de prenhez quando se utiliza receptoras ovulando entre 1 dia antes (-1) até 5 dias depois (+5) das doadoras.

Quando o plantel de receptoras atende as exigências de um programa de TE, os tratamentos hormonais para a sincronização são dispensados (McKINNON e SQUIRES, 1988). Entretanto, algumas vezes, faz-se necessário induzir a ovulação da receptora para garantir tal sincronia (PALMER e JOUSSET, 1975). O diâmetro mínimo de um folículo capaz de responder à indução da ovulação é de 35mm (PALMER, 1993). Nesses casos, a aplicação intramuscular de 1500 a 3000 UI de hCG induz a ovulação após 24 a 48 horas na grande maioria das éguas (SULLIVAN et al., 1973). Entretanto, administrações consecutivas de hCG podem induzir a formação de anticorpos e reduzir a porcentagem de éguas que respondem ao tratamento (SULLIVAN et al., 1973). Contudo, Duchamp et al. (1987) demonstraram que a utilização do extrato de pituitária equina (EPE) apresenta bons resultados de ovulação sem promover a formação de anticorpos.

Embora a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e seus análogos sejam luteolíticos efetivos, o corpo lúteo é refratário a tais agentes até aproximadamente 5 dias após a ovulação (PALMER e JOUSSET, 1975). Para sincronizar um grupo de éguas em todos os estádios do ciclo estral, o regime de dupla aplicação de $PGF_{2\alpha}$ pode ser adaptado ao da espécie bovina, ou seja, administrações com intervalo de 14 a 15 dias, técnica que induz o estro em 92% das éguas tratadas (PALMER e JOUSSET, 1975). Considerando-se que esse procedimento sozinho não é efetivo para sincronizar ovulações, ele deve ser associado à administração de hCG entre o 4º e o 6º dia após a segunda aplicação do agente luteolítico (PALMER e JOUSSET, 1975).

Segundo McCue (1996), as tentativas de induzir ovulações múltiplas nas éguas têm incluído a administração de: gonadotrofina coriônica equina (eCG), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), hormônio folículo estimulante de origem suína (FSH-P) e de origem equina (eFSH), EPE e vacinas contra a inibina. Entretanto, não há produtos hormonais comercialmente disponíveis capazes de induzir múltiplas ovulações em éguas (SQUIRES et al., 1999; SQUIRES et al., 2003).

O eCG é usado para induzir superovulação em ruminantes, sempre em doses elevadas e não tem efeito no desenvolvimento folicular ou na ovulação em éguas. Por outro lado, a administração de GnRH induz a produção de múltiplos folículos nas éguas em anestro estacional, porém, é ineficiente em éguas ciclando (McCUE, 1996; SQUIRES et al., 2003).

Nos estudos de administração do FSH, devido à indisponibilidade no comércio dos de origem equina, tem-se utilizado o FSH suíno, porém as respostas têm sido insatisfatórias (SQUIRES et al., 2003). Diversas preparações de FSH têm sido usadas para induzir múltiplas ovulações em éguas, entretanto, a dose necessária para induzir mais do que uma ovulação é extremamente elevada (SQUIRES et al., 1999).

O EPE é o mais utilizado para induzir ovulações múltiplas em éguas. As taxas de ovulação variam porque a quantidade de FSH e LH das preparações não são padronizadas. Assim, como nas éguas com ovulação espontânea, a colheita de embriões por ovulação é de aproximadamente 50%, ou seja, éguas que respondem ao EPE com quatro ovulações, geralmente produzem dois embriões. A colheita de embriões de éguas tratadas com EPE é três a quatro vezes maior do que as não tratadas (SQUIRES et al., 2003). Contudo, existem várias limitações quando se utiliza EPE para induzir ovulações múltiplas em éguas. Uma dessas limitações é a possível redução da viabilidade dos embriões das éguas superovuladas e a redução do número de embriões coletados por ovulação (DIPPERT et al., 1994; HINRICHS, 1998).

A imunização ativa ou passiva contra inibina tem sido utilizada para aumentar as taxas de ovulação das éguas, induzindo o aumento da secreção endógena de FSH (McCUE, 1996; GINTHER et al., 2002; SQUIRES et al., 2003). A inibina-A pode ser um dos hormônios que contribuem para o aumento da sensibilidade dos folículos às gonadotrofinas em associação com o mecanismo da divergência. Porém, estes mecanismos ainda não estão totalmente esclarecidos nas éguas (GINTHER et al., 2002).

2.4. Uso da ultra-sonografia na reprodução equina

O diagnóstico precoce da prenhez através de ultra-sonografia na espécie equina foi inicialmente reportado por Palmer e Driancourt (1980). Para realização do exame ultrasonográfico em éguas deve ser levado em consideração a anatomia da espécie, onde os cornos uterinos são dispostos em “V” (WOLF e GABALDI, 2002). Além disso, vale ressaltar um fenômeno característico dessa espécie que é a mobilidade intensa da vesícula embrionária entre o 10^o e 16^o dia de gestação (GINTHER, 1998; GRUNERT et al., 2005; GAIVÃO e STOUT, 2007).

A mobilidade da vesícula embrionária parece ser causada pelas contrações da parede uterina, a qual é controlada pelo próprio concepto, sofrendo redução até cessar no 17^o dia, devido a aumento do tônus uterino e da própria vesícula, culminando com o processo de fixação do concepto ao endométrio, que ocorre geralmente logo após a bifurcação uterina (KÄHN, 1994; GINTHER, 1998; GAIVÃO e STOUT, 2007).

Na maioria das éguas, o concepto pode ser visualizado pela primeira vez a partir do 9^o ao 13^o dia após a ovulação como uma pequena vesícula esférica com 4 a 5mm de diâmetro e espaço vesicular anecóico. A partir do 14^o dia, o diagnóstico de prenhez torna-se mais seguro pela visualização da vesícula embrionária com diâmetro médio de 15mm (MOURA e MERKT, 1996; WOLF e GABALDI, 2002).

Entre o 14^o e o 17^o dia de prenhez a vesícula embrionária alcança um desenvolvimento diário de e 3 a 4mm (WOLF e GABALDI, 2002), apresentando já no 16^o dia um diâmetro entre 20 e 25mm (MOURA e MERKT, 1996), porém, sofrendo redução na velocidade de crescimento a partir do 17^o dia de prenhez devido a implantação da vesícula embrionária na base do corno uterino (GINTHER, 1986; KÄHN, 1994; MOURA e MERKT, 1996), retornando a aumentar rapidamente depois do 25^o dia (KÄHN, 1994).

O concepto até o 15^o dia de gestação tem formato estritamente esférico, toma forma ovóide até o 17^o dia e forma de pêra entre os dias 18 e 21, após este período é visualizado sob forma irregular (KÄHN, 1994), começa a se estreitar na parte ventral, local onde o embrião

poderá ser observado (GINTHER, 1986; MOURA e MERKT, 1996; WOLF e GABALDI, 2002).

A subida do embrião na vesícula embrionária ocorre entre o 22^o e 25^o dia devido à redução do saco vitelino e simultânea formação da vesícula alantoideana (MOURA e MERKT, 1996).

A partir do 24^o ao 26^o dia de gestação pode-se detectar os batimento cardíacos do concepto (150 a 190 batimentos por minuto, que diminuem com o avançar da gestação), sendo o primeiro parâmetro relacionado à viabilidade embrionária, servindo para excluir uma gestação patológica. A frequência cardíaca chega a 196 batimentos por minutos durante o 3^o mês de gestação, porém diminui gradualmente (130 por minuto) até o 6^o mês de gestação (CURRAN e GINTHER, 1995).

No 30^o dia, o embrião posiciona-se no meio da vesícula embrionária e no 33^o dia no seu terço superior, com penetração de células coriônicas no endométrio para iniciar a formação dos cálices endometriais (MOURA e MERKT, 1996).

No 40^o dia ocorre o início da formação do cordão umbilical (GINTHER, 1998). Entre 41^o e o 60^o dias de gestação devido à formação do cordão umbilical ligado ao pólo dorsal do alantocóron, ocorre o descenso fetal para porção ventral da vesícula, onde o feto ficará na posição de decúbito dorsal. A partir deste momento o feto poderá ser observado e são vistos os primeiros movimentos fetais, parâmetro também relacionado à viabilidade fetal (GINTHER, 1986; KÄHN, 1994; GINTHER, 1998).

Depois dos 60 dias de gestação, a ultra-sonografia fetal ganha uma nova dimensão, podendo-se descrever inúmeras partes e órgãos do feto, bem como suas mensurações, obtendo-se importantes conclusões de gestações anormais e determinação da idade fetal (KÄHN, 1994).

A determinação do sexo fetal pode ser realizada entre o 50^o e 70^o dia de gestação, onde a técnica para determinação do sexo é baseada no posicionamento relativo do tubérculo genital. O tubérculo genital é a estrutura que dará origem ao pênis e prepúcio nos machos e a vulva e ao clitóris nas fêmeas, apresentando-se à ultra-sonografia como uma estrutura bilobulada, com cada lobo alongado e ovóide, de pouco milímetros de tamanho e ecogenicidade intensa (CURRAN, 1992; KÄHN, 1994).

Na espécie equina, há um consenso quanto ao período ótimo para realização do diagnóstico de gestação utilizando-se a ultra-sonografia, ficando entre os dias 15 a 18 pós-cobertura ou IA, pois é o momento em que a vesícula é facilmente detectada. Entretanto, é indicado que se faça um reexame em torno do 30^o dia, para se verificar uma possível morte

embrionária precoce, que é mais comum neste período; outra avaliação é recomendada entre o 50^o e o 60^o dia de gestação para que todas as perdas sejam detectadas (KÄHN, 1994; FERREIRA et al., 1999; WOLF e GABALDI, 2002).

2.5. Aspectos relacionados à perda do conceito

Considera-se perda precoce do conceito uma prenhez interrompida involuntariamente nos primeiros 60 dias (WOLF e GABALDI, 2002), definindo-se como morte embrionária quando esta acontece antes da completa organogênese, que geralmente ocorre antes do 40^o dia de gestação (GINTHER, 1998; GRUNERT et al., 2005).

A perda precoce do conceito tem-se mostrado como maior fator de subfertilidade e de redução da eficiência reprodutiva em éguas, ocasionando grandes prejuízos econômicos para o criador (DUARTE et al., 2002; GRUNERT et al., 2005; ROCHA et al., 2007).

A incidência de perdas do conceito relaciona-se diretamente com a saúde do trato reprodutivo em especial com endometrites (GINTHER et al., 1985; WOODS et al., 1987; CARNEVALE e GINTHER, 1992; PAPA et al., 1998; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), variando ainda, entre os diversos fatores, em função da idade das éguas (CHEVALIER-CLÉMENT, 1989; CARNEVALE e GINTHER, 1992; CARNEVALE et al., 2000), do período de gestação (DUARTE et al., 2002), da condição nutricional (HENNEKE et al., 1983; WOODS et al., 1987; SQUIRES et al., 1999; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), do clima (BALL, 1993), do intervalo de diagnóstico e método de determinação da prenhez (McKINNON et al., 1988).

Com a introdução da ultra-sonografia no estudo dos problemas reprodutivos dos equinos, na década de 80, as perdas de prenhez passaram a ser melhor compreendidas pois, essa técnica possibilitou já aos 10 ou 11 dias pós-ovulação, observar sinais precisos sobre a evolução e subsequente perda da prenhez (PALMER e DRIANCOURT, 1980; TAVEIROS, 2000), o que não é possível unicamente através da palpação transretal.

Os índices de morte dos conceitos em equinos no início da gestação são mais elevados do que em estágios avançados, esse fato pode ter relação com a modificação do ambiente uterino na ocasião da chegada do embrião ao útero entre o 5^o e 6^o dia (GINTHER et al., 1985) e com a falta de mobilidade do mesmo entre o 10^o e 16^o dia que tem como consequência o não reconhecimento materno de prenhez (GINTHER, 1998; GRUNERT et al., 2005; GAIVÃO e STOUT, 2007).

Possíveis ocorrências de anomalias cromossômicas e defeitos morfológicos do embrião (BOUÉ e BOUÉ, 1976; BLUE, 1981) ou ainda efeito negativo de anomalias

cromossômicas originárias da senilidade dos gametas (BLUE, 1981), também são relatados como causas de perda de prenhez no período inicial da gestação.

Ball (1993) relata que a ocorrência de morte embrionária entre a fertilização e o 14^o dia é de 9% para éguas jovens e férteis e de 62 a 73% para éguas idosas e subférteis. Chevalier-Clément (1989) considera que a perda de prenhez aumenta com a idade da égua. Segundo Woods et al. (1987), há uma elevação direta e contínua da perda de prenhez em éguas acima de 13 anos. Porém, Duarte et al. (2002) relataram não existir diferenças entre os índices de prenhez em função das distintas faixas etárias, contudo, ressaltaram uma tendência das fêmeas com mais de 12 anos a terem fertilidade mais baixa do que as de faixas etárias inferiores.

Alguns estudos têm se referido a elevadas taxas de perdas embrionárias quando as éguas são acasaladas no cio do potro, sendo anormalidades do ambiente uterino, atraso na involução do útero ou endometrites persistentes os fatores que mais contribuem para essas perdas (BALL, 1993). Porém, outros estudos reportam que os índices de perdas de prenhez não diferem quando as éguas são inseminadas no cio do potro ou cio subsequente (WOODS et al., 1987; DUARTE et al., 2002).

Por outro lado, no que se refere à fatores hormonais, embora não existam informações definitivas sobre as concentrações ideais de progesterona necessárias para o desenvolvimento e manutenção da prenhez, concentrações inadequadas têm sido associadas à morte embrionária (DOUGLAS et al., 1985; GINTHER et al., 1985). Nesse sentido, Douglas et al. (1985) propuseram que níveis de progesterona abaixo de 2,5ng/mL em torno do 12^o dia indicam insuficiência lútea e inviabilidade da gestação.

A progesterona (P₄) parece ser a única substância ovariana requerida para manutenção da prenhez. Com base nesse princípio, sua administração permite o estabelecimento da gestação em éguas ovariectomizadas receptoras de embriões em taxas comparáveis às de éguas intactas (BALL, 1993; SQUIRES, 1993a).

No que se refere a estrógenos (E₂), a concentração plasmática entre o 13^o e o 21^o dia pós-ovulação é menor em éguas com perdas embrionárias do que em éguas gestantes (LOPES et al., 1993), isto, pode ser um indicativo de viabilidade embrionária, porém, são necessários estudos mais detalhados para confirmar esse fato (PAPA et al., 1998).

Quando se trata de programas de TE, além dos fatores mencionados anteriormente, as perdas embrionárias, entre uma variabilidade de fatores estão relacionadas ao método de transferência (SQUIRES et al., 1982; SQUIRES et al., 1999; JASKO, 2002), ao tamanho e a idade do embrião (McKINNON et al., 1988; FLEURY e ALVARENGA, 1999), a morfologia

embrionária (McKINNON e SQUIRES, 1988; CARNEVALE et al., 2000; SQUIRES et al., 2003), a sincronia entre doadoras e receptoras (McKINNON et al., 1988; SQUIRES, 1993a; JACOB et al., 2002; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), aos procedimentos de cultivo e armazenagem de embriões (SQUIRES et al., 2003), ao grupo de animais em estudo (WILSON et al., 1987; SERTICH, 1989; CARNEVALE e GINTHER, 1992; CARNEVALE et al., 2000; TAVEIROS et al., 2003; ALONSO et al., 2005) e a história reprodutiva de doadoras e receptoras de embriões (McKINNON et al., 1988; TAVEIROS, 2000; CARNEVALE et al., 2000; SQUIRES et al., 2003; LOSINNO e ALVARENGA, 2006).

3. REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Transfer of ova between horses and donkeys. In: ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 7th. 1972. München. **Proceedings...** München, 1972. p. 484-487.
- ALONSO, M. A. et al. Effect of donor mare's age in embryonic loss rate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, Supl. 1, p.203, 2005
- AX, R.L. et al. Artificial insemination. In: HAFEZ, E.S.E. & HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap. 26, 376-389.
- BACKMAN, T. et al. Pregnancy rates of mares inseminated with semen cooled for 18 hours and then frozen. **Journal of Animal Science**, v.82, p.690-694, 2004.
- BALL, B. A. Embryonic death in mares. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap. 61, p.517-531.
- BALL, B. A. Evaluation and use of transported equine semen. In: EQUINE ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY WORKSHOP, 1998, Davis. **Proceedings...**Davis, [s.n.], 1998. p.18-24.
- BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycles in mares. **Theriogenology**, v.39, p.781-796, 1993.
- BLUE, M. G. A cytogenetical study of prenatal loss in the mare. **Theriogenology**, v.15, n.3, p.295-309, 1981.

- BOUÉ, J.G.; BOUÉ, A. Chromosomal anomalies in early spontaneous abortion: their consequences on early embryogenesis and in vitro growth of embryonic cells. **Current Topics in Pathology**, v.62, p. 193-208, 1976.
- BRINSKO, S. P., VARNER, D. D. Artificial insemination. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap. 84, p.790-797.
- CARNEVALE, E. M. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 54, p. 965-979, 2000.
- CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O.J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. **Theriogenology**, v. 37, p. 1101-1115, 1992.
- CHEVALIER-CLÉMENT, F. Pregnancy loss in the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 231-244, 1989.
- CURRAN, S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology**, v. 37, n. 1, p. 17-21, 1992.
- CURRAN, S.; GINTHER, O. J. M-mode ultrasonic assessment of equine fetal heart rate. **Theriogenology**, v. 44, p. 609-617, 1995.
- DAELS, P. F.; HUGHES, J.P. The normal estrous cycle. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.14, p.121-132.
- DIPPERT, K. D. et al. Fertilization rates in superovulated and spontaneously ovulating mares. **Theriogenology**, v. 41, n. 7, p. 1411-1423, 1994.
- DOBRINSKI, I. et al. Role of carbohydrates in the attachment of equine spermatozoa to uterine tubal (oviductal) epithelial cells in vitro. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n.11, p. 1635-1639, 1996.
- DOUGLAS, R. H.; BURNS, P. J.; HERSHMAN, L. Physiological and commercial parameters for producing progeny from subfertile mares by embryo transfer. **Equine Veterinary Journal**, Suppl. 3, p.111-114, 1985.
- DOWSETT, K. F. et al. Seasonal variation in the estrous cycle of mares in the subtropics. **Theriogenology**, v.39, p.631-653, 1993.

- DUCHAMP, G. et al. Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 35, p. 221-228, 1987.
- DUARTE, M. B.; VIEIRA, R. C.; SILVA, F. O. C. Incidência de perda de prenhez até o 50º dia em éguas Quarto de Milha. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 643-647, 2002.
- FERREIRA, J.B.P. et al. Incidência e caracterização ultra-sonográfica da morte embrionária em éguas da raça Campolina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.202-203, 1999.
- FLEURY, J. J.; ALVARENGA, M. A. Effects of collection on embryo recovery and pregnancy rates in nonsurgical equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 51, p. 261, 1999.
- FLEURY, J. J. et al. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.1, p. 29-33, 2001.
- FLEURY, J. J. et al. Transferência de embriões em equinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., 1987, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1987, p. 40.
- GAIVÃO, M. M. F.; STOUT, T. A. E. Maternal recognition of pregnancy in the mare: a mini review. **Revista Lusófona Ciência e Medicina Veterinária**, v.1, p. 5-9, 2007.
- GASTAL, E. L. et al. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 57, n. 6, p. 1320-1327, 1997.
- GINTHER, O.J. et al. Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. **Theriogenology**, v.24, n.4, p.203-216, 1985.
- GINTHER, O. J. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. **Milne Lecture: Equine Pregnancy**, v.44, p. 73-104, 1998.
- GINTHER, O. J. et al. Follicle and endocrine dynamics during experimental follicle deviation in mares. **Biology of Reproduction**, v. 67, p. 862-867, 2002.
- GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O. P. **Ultrasound imaging and reproductive events in the mare**. Madison: Equiservice, 1986, 377p.

GRUNERT, E. et al. Distúrbios da reprodução: alterações conseqüentes às interações entre o útero e o concepto. In:_. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**. São Paulo: Varela, 2005. Cap.10, p. 465-488.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 6^a ed. São Paulo: Manole, 1995. 582p.

HENRY, M.; MEIRA, C.; OLIVEIRA, M. M. F. Transferência não cirúrgica de embriões em equídeos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., 1987, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1987, p. 74.

HENNEKE, D. R. 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.

HINRICHS, K. Production of embryos by assisted reproduction in the horse. **Theriogenology**, v. 49, n. 1, p. 13-21, 1998.

IULIANO, M.F.; SQUIRES, E. L.; COOK, V. M. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. **Journal of Animal Science**, v. 60, p. 258-263, 1985.

JACOB, J.C.F. et al. The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v.57, p. 545, 2002.

JASKO, D.J. Comparison of pregnancy rates following nonsurgical transfer of day 8 equine embryos using various transfer devices. **Theriogenology**, v.58, p.713-715, 2002.

KÄHN, W. **Veterinary Reproductive Ultrasonography**. London: Mosby-Wolfe, 1994, p.256.

LOPES, M.D. et al. Morte embrionária precoce em éguas: Aspectos clínicos e hormonais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., 1993, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993. v. 2, p. 231-380.

LOSINNO, L.; ALVARENGA, M.A. Critical factors on equine embryos transfer programas in Brasil and Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p. 39-49, 2006.

- McCUE, P. M. Superovulation. **Veterinary Clinics of North America: Equine practice**, Philadelphia, v. 12, n. 1, p. 1-11, 1996.
- McKINNON, A.O. et al. Equine embryo transfer: A review. **Compendium Continuing Education Practice Veterinary**, v.10, n.3, p. 343-355, 1988.
- McKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L. Morphologic assessment of the equine embryo. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 3, p. 401-406, 1988.
- MIES FILHO, A. **Inseminação artificial**. 6^a ed. Porto Alegre: Sulina, 1987. 750p.
- MOURA, J.C.A.; MERKT, H. **A ultrasonografia na reprodução equina**. Salvador: 2^a ed. Salvador: Editora Universitária Americana, 1996, 162p.
- NUNES, D. B.; ZÚCCARI, C. E. S.N.; COSTA E SILVA, E. V. Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmen refrigerado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.1/2, p.42-56, 2006.
- OGURI, N.; TSUTUMI, Y. Non-surgical recovery of equine eggs, and a attempt at non-surgical egg transfer in horses. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.31, n.2, p. 187-195, 1972.
- OGURI, N.; TSUTUMI, Y. Non-surgical egg transfer in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.41, p. 313-320, 1974.
- PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13, n.3, p.203-216, 1980.
- PALMER, E. Induction of ovulation. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.38, p.344-347.
- PALMER, E.; JOUSSET, B. Synchronization of oestrus in mare with a prostaglandin analogue and hCG. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 23, p. 269-274, 1975.
- PICKETT, B.W.; AMANN, R.P. Cryopreservation of semen. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.83, p.769-789.
- PIERSON, R.A. Folliculogenesis and ovulation. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.17, p.161-171.
- PIMENTEL, C.A.; CARNEIRO, G.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução de equinos. In:

- GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2^a Ed. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 8, p.145-159.
- ROCHA, A.N. et al. Taxas de Prenhez e perda embrionária precoce em programa comercial de transferência de embriões (TE) em éguas da raça Mangalarga Marchador. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 17., 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2007. p. 160.
- PAPA, F.O. et al. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n.4, p. 170-173, 1998.
- SHARP, D.C.; CLEAVER, B.D. Melatonin. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.11, p.100-108.
- SERTICH, P.L. Transcervical embryo transfer in performance mares. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.195, n.7, p.940-944, 1989.
- 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.
- SQUIRES, E. L. Embryo transfer. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993a. Cap.41, p.357-367.
- SQUIRES, E.L. et al. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, v. 59, p. 151-174, 2003.
- SQUIRES, E.L. Puberty. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993b. Cap.13, p.114-120.
- SQUIRES, E.L.; IULIANO, M. F.; SHIDELER, R. K. Factors affecting the success of surgical and nonsurgical equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.17, p.35-41, 1982.
- SQUIRES, E. L.; McCUE, P.M.; VANDERWALL, D. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 51, p. 91-104, 1999.
- SOUZA, F.A.A.; TOLEDO, L.R.A.; LIMA, C.G. Ocorrência de perda embrionária precoce em éguas da raça Mangalarga acasalada por monta natural ou submetida à inseminação artificial. **ARS Veterinária**, v. 17, p. 183-189, 2001.

SULLIVAN, J. J.; PARKER, W. G. LARSON, L. L. Duration of estrus and ovulation time in nonlactating mares given human chorionic gonadotropin during three successive estrous period. **Journal of American Veterinary and Medical Association**, v. 162, p. 895-898, 1973.

TAVEIROS, A.W. **Transferência de embriões equinos da raça Mangalarga Machador**. 2000. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

TAVEIROS, A.W. et al. Perda de conceito em programa de inseminação artificial e de transferência de embriões em equinos da raça Mangalarga Marchador. **Medicina Veterinária**, v. 2, n.2, p.28-33, 2008.

TAVEIROS, A.W. et al. 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.

VILELA, D.; ARAÚJO, P. M. M. **Contribuições das câmaras setoriais e temáticas à formulações de políticas públicas e privadas para o agronegócio**. Brasília: MAPA/SE/CGAC, 2006. 496p.

WEISS, R. R.; VIANNA, B. C.; MURADÁS, P. R. Inseminação artificial em éguas com sêmen *in natura* e diluído. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n.1, p. 19-22, 2003.

WILSON, J.M. et al. Successful non-surgical transfer of equine embryos to post-partum lactating mares. **Theriogenology**, v. 27, n. 1, p. 295, 1987.

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

WOODS, G.L. et al. Early pregnancy loss in brood mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, suppl. 35, p. 455-459, 1987.

CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DE ALGUNS FATORES QUE INFLUENCIAM A PERDA DO CONCEPTO EM ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR

M.C. Rabelo, A.W. Taveiros, P.R.M. Melo, R.M. Chaves, E.R. Santos Junior, C.R. Aguiar Filho, F.Q.G. Bezerra, J.M. Almeida Irmão, L.M. Freitas Neto, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira

Avaliação de alguns fatores que influenciam a perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Marchador

(Evaluation of some factors that influence the conceptus loss in Mangalarga Marchador mares)

MC Rabelo¹; AW Taveiros², PRM Melo³; RM Chaves¹; ER Santos Junior¹; CR Aguiar Filho¹; FQG Bezerra¹; JM Almeida Irmão¹; LM Freitas Neto; PF Lima¹; MAL 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. CEP 52171-900 Recife-PE/Brasil.

²Regimento de Polícia Montada Dias Cardoso. Av. General San Martin, s/n, Bongi. CEP 50.761 000 Recife-PE/Brasil.

³Médica Veterinária Autônoma.

Resumo

Objetivou-se com este estudo, avaliar alguns fatores que influenciam a perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Marchador inseminadas artificialmente, considerando a faixa etária, o *status* reprodutivo e o período gestacional. Foram monitoradas 320 gestações entre os anos de 2003 e 2006 compreendendo fêmeas nulíparas (n = 52), pluríparas não lactantes (n = 112) e pluríparas lactantes (n = 156). Os animais possuíam idade entre 4 e 16 anos. O monitoramento da gestação por ultra-sonografia foi realizado no 15^o dia pós-ovulação, repetindo-se os exames nos 20^o, 30^o e 45^o dias de prenhez. O índice total de perda do concepto foi de 9,06% (29/320). Com relação à faixa etária, as perdas de 8,06% (5/62), 6,58% (10/152) e 13,21% (14/106) para fêmeas com menos de 5 anos, de 5 a 10 anos e de 11 a 16 anos, respectivamente, não evidenciaram diferenças significativas ($P > 0,05$). Quanto ao *status* reprodutivo, perdas de 5,77% (3/52), 9,82% (11/112) e 9,61% (15/156) para fêmeas nulíparas, pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes, respectivamente, também não mostraram diferenças significativas ($P > 0,05$). No que se refere ao período gestacional, o índice de perda do concepto foi mais significativo ($P < 0,05$) no período de 15 a 20 dias de gestação. Não foi evidenciada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os índices de perdas do concepto das éguas inseminadas no cio do potro 8,97% (7/78) e daqueles inseminadas no cio subsequente 10,26% (8/78). Com base nos dados deste estudo foi possível concluir que o *status* reprodutivo e a faixa etária não influenciam as taxas de perdas do concepto, porém, no período entre a 2^a e 3^a semana de gestação, as éguas estão mais susceptíveis a essas perdas.

Palavras-chave: equinos, período gestacional, *status* reprodutivo, faixa etária.

Abstract

The aim of this study was to evaluate some factors that influence the conceptus loss in Mangalarga Marchador mares artificially inseminated, considering the group age, the reproductive *status* and the gestational period. Between the years 2003 and 2006 were monitored the pregnancies of 320 mares, including nulliparous female (n = 52), not lactating pluriparous (n = 112) and pluriparous in lactation (n = 156) aged between 4 and 16 years. The monitoring of pregnancy by ultrasound was conducted by the 15th day after ovulation, repeating the tests on the 20th, 30th and 45th day of pregnancy. The total of conceptus loss was 9.06% (29/320). Concerning the age group, losses of 8.06% (5/62), 6.58% (10/152) and 13.21% (14/106) for females under the age of 5, 5 to 10 years and 11 to 16 years respectively showed no significant differences (P > 0.05). As for reproductive *status*, loss of 5.77% (3/52), 9.82% (11/112) and 9.61% (15/156) for females nulliparous, pluriparous non lactants and pluriparous in lactation, respectively, also showed no significant differences (P > 0.05). Considering the gestational period, the concept loss was more significant (P < 0.05) in the period from 15 to 20 days of gestation. Were not highlighted significant differences (P > 0.05) between the pregnancy rates loss of the mares inseminated in the foal heat 8.97% (7/78) and those inseminated in subsequent estrus 10.25% (8/78). Based on data from this study were unable to conclude that the reproductive *status* and age group did not influence the rates of the concept loss, but, in the period between 2nd and 3rd weeks of gestation, the mares are more susceptible to these losses.

Key words: equines, gestational period, reproductive *status*, age group.

Introdução

A perda do concepto é um problema de relevante importância na criação de equinos, prejudicando a produção de potros, reduzindo a receita com significativos prejuízos econômicos para o criador (SOUZA et al., 2001). A introdução da ultra-sonografia no estudo dos problemas reprodutivos possibilitou uma melhor compreensão sobre a perda do concepto equino por permitir aos 10 ou 11 dias pós-ovulação, observar a evolução e subsequente perda da gestação (PALMER e DRIANCOURT, 1980; TAVEIROS, 2000), o que não é possível através da palpação transretal.

Trabalhando com éguas da raça Campolina, Ferreira et al. (1999) verificaram um índice de perda de concepto de 6,8% no período de 15 a 45 dias pós-cobertura. Taxa de 10,8% de perda do concepto no período de 14 a 60 dias em éguas Puro Sangue Inglês pós-inseminação artificial foram relatadas por Ferraz e Vicente (2006). Já em éguas Quarto de Milha, no período de 11 a 50 dias pós-inseminação artificial, foi verificado um índice total de perda de 8,53%, dos quais o maior índice 5,39% ocorreu no período de 11 a 20 dias, sendo o período entre a 2ª e 3ª semana considerado o mais susceptível à perda precoce do concepto (DUARTE et al., 2002).

Duarte et al. (2002) relataram não existir diferenças entre os índices de prenhez em função das distintas faixas etárias. Porém, Chevalier-Clément (1989) considera que a perda do concepto aumenta com a idade da égua. Segundo Woods et al. (1987), há uma elevação direta e contínua da perda do concepto em éguas acima de 13 anos.

Registros encontrados na literatura indicam uma significativa variação dos índices de perda do concepto em função do *status* reprodutivo. Em éguas paridas, solteiras e potras de diferentes raças foram observadas perdas de 14,0%, 14,0% e 12,0%, respectivamente (WOODS et al., 1987). Perdas de 4,5%, 5,4% e 6,5% respectivamente para éguas nulíparas, pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes de diversas raças foram encontradas por Chevalier-Clément (1989).

Estudos reportam que os índices de perdas do concepto não diferem quando as éguas são inseminadas no cio do potro ou no cio subsequente (WOODS et al., 1987; DUARTE et al., 2002).

Considerando que a perda do concepto em equinos é um problema que causa significativos prejuízos econômicos para o criador e que os dados relativos a esse tema reportadas na literatura são conflitantes, objetivou-se com este estudo avaliar alguns fatores

que influenciam a perda do conceito em éguas da raça Mangalarga Marchador, inseminadas artificialmente, considerando, a faixa etária, o *status* reprodutivo e o período de gestação.

Material e Métodos

O experimento foi realizado entre os anos de 2003 e 2006, na Fazenda Pedra Verde, localizada no Município de Limoeiro, a 07°52'29" S de latitude e a 35°27'01" W de longitude, microrregião do Médio Capibaribe, Agreste do Estado de Pernambuco, caracterizada por um clima quente e úmido com temperatura média em torno de 24°C e precipitação pluviométrica média anual de 1.248 mm³.

Foram monitoradas as gestações de 320 éguas da raça Mangalarga Marchador, compreendendo fêmeas nulíparas (n = 52), pluríparas não lactantes (n = 112) e pluríparas lactantes (n = 156), com idade variando entre 4 e 16 anos, sendo, fêmeas com menos de 5 anos (n = 62), de 5 até 10 anos (n = 152) e 11 a 16 anos (n = 106), mantidas em piquetes de capim Pangola (*Digitaria decumbens*) e suplementadas com 4 kg/dia de ração comercial (Corcelina-Purina[®]/São Lourenço da Mata-PE), além de água e sal mineral (Coequisalplus-Tortuga[®]/São Paulo-SP) *ad libitum*.

Todas as éguas, com condição corporal entre 5 e 7 na escala de 1-9, conforme sugerido por Henneke et al. (1983), foram submetidas a exame clínico-ginecológico e monitoradas por palpação transretal e ultra-sonografia, sendo utilizadas neste estudo, apenas aquelas que, não evidenciavam presença de líquidos no útero e/ou alterações endometriais que compromettesse a fertilidade. A partir da detecção do estro com auxílio de rufião, as éguas foram inseminadas em dias alternados até a ovulação com sêmen fresco de reprodutor de comprovada fertilidade na dose de 500 x 10⁶ espermatozóides viáveis.

Classificou-se o cio de acordo com sua ocorrência, considerando-o cio do potro, quando este se iniciou até 14 dias pós-parto e cio subsequente aquele manifestado após o cio do potro.

O diagnóstico de gestação foi realizado no 15^o dia após a ovulação, utilizando-se um aparelho de ultra-som (ALOKA SSD-500 Tóquio/Japão), com transdutor linear de 5MHz. As fêmeas foram reexaminadas para comprovação do diagnóstico no 20^o, 30^o e 45^o dia de prenhez.

As proporções de perdas relativas ao período de gestação, *status* reprodutivo e faixa etária foram analisadas pelo teste do Qui-quadrado (χ^2) em nível de 5% de probabilidade.

Resultados

O índice total de perdas do concepto encontrado no período de 15 a 45 dias após inseminação artificial foi de 9,06% (29/320). No que se refere à faixa etária, as perdas foram 8,06% (5/62), 6,58% (10/152) e 13,21% (14/106) para fêmeas com menos de 5 anos, de 5 a 10 anos e de 11 a 16 anos, respectivamente (Tabela 1). Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) em relação às diferentes faixas etárias estudadas.

Tabela 1 – Perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador em função da faixa etária no período de 15 a 45 dias de gestação.

Faixa etária (Anos)	Prenhez (N)	Perda do concepto	
		(N)	(%)
< 5	62	5	8,06
5 a 10	152	10	6,58
11 a 16	106	14	13,21
Total	320	29	9,06

Diferenças não significativas pelo teste do χ^2 ($P > 0,05$).

Os índices de perda do concepto concernentes aos *status* reprodutivos foram 5,77% (3/52), 9,82% (11/112) e 9,61% (15/156) para fêmeas nulíparas; pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes, respectivamente (Tabela 2). Esses resultados não evidenciaram diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os *status* reprodutivos.

Tabela 2 – Perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador conforme o *status* reprodutivo no período de 15 a 45 dias de gestação.

<i>Status</i> reprodutivo	Prenhez (N)	Perda do concepto	
		(N)	(%)
Nulíparas	52	3	5,77
Pluríparas não lactantes	112	11	9,82
Pluríparas lactantes	156	15	9,61
Total	320	29	9,06

Diferenças não significativas pelo teste do χ^2 ($P > 0,05$).

Os índices de perda do concepto relativos aos diferentes períodos de gestação de 6,25% (20/320), 1,67% (5/300) e 1,35% (4/295) foram verificados nos períodos gestacionais de 15 a 20, de 21 a 30 e de 31 a 45 dias, respectivamente (Tabela 3). As perdas ocorridas no período de 15 a 20 dias apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) comparado aos demais períodos estudados.

Tabela 3 – Perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador de acordo com os diferentes períodos de gestação.

Período da gestação (Dias)	Prenhez (N)	Perda do concepto	
		(N)	(%)
15 a 20	320	20	6,25 ^a
21 a 30	300	5	1,67 ^b
31 a 45	295	4	1,35 ^b

Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas pelo teste do χ^2 ($P < 0,05$).

Os índices de perda do concepto relativos às fêmeas inseminadas no cio do potro e no cio subsequente foram 8,97% (7/78) e 10,26% (8/78), respectivamente (Tabela 4). Esses resultados indicam não haver diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os índices de perdas em relação à classificação do cio no momento da inseminação.

Tabela 4 – Índices de perda do concepto em éguas da raça Mangalarga Machador de acordo com a classificação do cio.

Classificação do cio	Prenhez (N)	Perda do concepto	
		(N)	(%)
Cio do Potro	78	7	8,97
Cio subsequente	78	8	10,26
Total	156	15	9,61

Diferenças não significativas pelo teste do χ^2 ($P > 0,05$).

Discussão

Os índices de perda do concepto não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$) em função das diferentes faixas etárias. Contudo, em termos de valor absoluto as fêmeas com idade acima de 11 anos apresentaram taxas de fertilidade menores quando comparadas às de faixa etária inferiores. Estes achados corroboram com os relatos de Duarte et al. (2002) que apesar de não terem observado diferenças estatísticas das perdas do concepto em função das distintas faixas etárias, evidenciaram uma tendência das éguas acima de 12 anos terem fertilidade mais baixa do que as de menor faixa etária, com as observações de Woods et al. (1987) que constataram uma elevação direta e contínua de perda do concepto em éguas acima de 13 anos e com os achados de Chevalier-Clément (1989), ao afirmar que a perda do concepto aumenta com a idade da égua.

Estudos em humanos indicam que fatores intrínsecos, como anomalias cromossômicas parecem aumentar com o avanço da idade (BOUÉ e BOUÉ, 1976). Conforme Woods et al. (1987) e Ball (1993) o mesmo deve ocorrer em equinos; quanto mais velha a égua, maior a possibilidade desses fatores causarem perda do concepto. Possivelmente, esse fato, também pode ter ocorrido neste estudo.

Os índices de perda do concepto não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$) entre fêmeas nulíparas, pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes. Observações semelhantes às

relatadas por Woods et al. (1987) em éguas de diferentes raças, por Chevalier-Clément (1989) em fêmeas Puro Sangue Inglês, por Souza et al. (2001) em éguas da raça Mangalarga e por Duarte et al. (2002) éguas Quarto de Milha, que também não constataram as diferenças significativas entre índices de perdas em função do *status* reprodutivo.

Em fêmeas nulíparas, o índice de perda do concepto (5,80%) foi inferior aos 14,00% e 12,90% encontrados, respectivamente, por Woods et al. (1987) e Souza et al. (2001) e superior aos 4,50% e 5,17% relatados por Chevalier-Clément (1989) e Duarte et al. (2002), respectivamente.

No grupo de éguas pluríparas não lactantes, o índice de perda do concepto de 9,82%, foi inferior aos 14,00% observados por Woods et al. (1987) e aos 11,10% citados por Souza et al. (2001) sendo superior aos 5,40% e 5,56% relatados, respectivamente, por Chevalier-Clément (1989) e por Duarte et al. (2002). O índice de perda de prenhez em éguas pluríparas lactantes (9,61%) foi inferior aos 14,00% e 14,30% observados por Woods et al. (1987) e por Souza et al. (2001), respectivamente, e superior aos 6,50% e 9,21% relatados, respectivamente, por Chevalier-Clément (1989) e Duarte et al. (2002).

A grande variabilidade dos percentuais de perda de prenhez verificados na literatura consultada pode ser atribuída à heterogeneidade dos animais investigados, à possíveis problemas na saúde do trato reprodutivo (PAPA et al., 1998), ou ainda, a distintos manejos e assistência técnica veterinária.

Analisando as perdas do concepto em função dos distintos períodos gestacionais verificou-se que as perdas ocorridas no período entre 15 e 20 dias, apresentaram índices significativamente superiores ($P < 0,05$) as ocorridas entre os períodos de 21 a 30 dias e entre 31 e 45 dias.

As perdas no início do período gestacional, provavelmente estão relacionadas a uma inadequação do ambiente uterino de algumas fêmeas, no momento da chegada do embrião ao

útero entre o 5^o e o 6^o dia (GINTHER et al., 1985), ou ainda por falta de mobilidade do mesmo entre o 10^o e 16^o dia, com conseqüente não reconhecimento materno da prenhez (GINTHER et al., 1985; GAIVÃO e STOUT, 2007). Esses resultados, também podem ser explicados, ainda que de modo especulativo por uma possível ocorrência de anomalias cromossômicas e defeitos morfológicos do embrião (BOUÉ e BOUÉ, 1976; BLUE, 1981).

O índice total de perdas observado para o período de 15 a 45 dias de gestação de 9,06% (29/320) foi inferior aos 12,52% observados por Woods et al. (1987) em éguas de distintas raças no período entre 14 e 56 dias, aos 13,28% verificados por Lopes et al. (1993) em éguas Quarto de Milha, Puro Sangue Inglês e Mangalarga Paulista no período de 10 a 45 dias e aos 10,80% observados por Ferraz e Vicente (2006) em éguas Puro Sangue Inglês no período de 14 a 60 dias. Porém, foi superior aos 6,80% obtidos por Ferreira et al. (1999) em éguas da raça Campolina no período de 15 a 45 dias e aos 8,53% observados por Duarte et al. (2002) em fêmeas Quarto de Milha no período de 11 a 50 dias de gestação. Os achados desta pesquisa corroboram com as observações dos autores acima referidos, os quais relatam que os maiores índices de perda do concepto ocorrem nas primeiras semanas de gestação.

Analisando-se os índices de perdas do concepto em função da classificação do cio no momento da inseminação artificial, os resultados não evidenciaram diferenças estatísticas ($P > 0,05$) entre as éguas inseminadas no cio do potro e no cio subsequente, concordando com as observações de Woods et al. (1987) e Duarte et al. (2002). Nas éguas inseminadas no cio do potro, foi observado um índice de perda de (8,97%) que é inferior aos 11,00% citados por Woods et al. (1987) e semelhante aos 8,91% referidos por Duarte et al. (2002).

No que se refere ao cio subsequente, o índice de perda observado de 10,26% foi inferior aos 12,00% relatados por Woods et al. (1987) e próximo aos 9,90% referido por Duarte et al. (2002).

De acordo com Ball, (1993) e Grunert et al. (2005), anormalidades no ambiente uterino como, falhas na involução do útero e endometrites persistentes, parecem ser os fatores que mais contribuem para morte do concepto em éguas inseminadas no cio do potro. Os dados obtidos indicam que esses fatores tiveram pouca ou nenhuma influência nos resultados deste estudo, ratificando ainda, as boas condições de fertilidade em que se encontravam as éguas paridas utilizadas neste trabalho.

Conclusões

Com base nos dados deste estudo foi possível concluir que o *status* reprodutivo e a faixa etária não influenciam as taxas de perdas do concepto, porém, no período entre a 2ª e 3ª semana de gestação, as éguas estão mais susceptíveis a essas perdas.

Referências

- BALL, B.A. Embryonic death in mares. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap. 61, p.517-531.
- BLUE, M.G. A cytogenetical study of prenatal loss in the mare. **Theriogenology**, v.15, n.3, p.295-309, 1981.
- BOUÉ, J.G.; BOUÉ, A. Chromosomal anomalies in early spontaneous abortion: their consequences on early embryogenesis and in vitro growth of embryonic cells. **Current Topics in Pathology**, v.62, p. 193-208, 1976.
- CHEVALIER-CLÉMENT, F. Pregnancy loss in the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 231-244, 1989.

DUARTE, M. B. et al. Incidência de perda de prenhez até o 50º dia em éguas Quarto de Milha. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 643-647, 2002.

FERRAZ, L.E.S.; VICENTE, W.R.R. Influencia do momento da cobrição, em relação à ovulação, na fertilidade e na ocorrência de morte embrionária precoce em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.1-6, 2006.

FERREIRA, J.B.P. et al. Incidência e caracterização ultra-sonográfica da morte embrionária em éguas da raça Campolina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.202-203, 1999.

GAIVÃO, M.M.F.; STOUT, T.A.E. Maternal recognition of pregnancy in the mare – a mini review. **Revista Lusófona Ciência e Medicina Veterinária**, v.1, p. 5-9, 2007.

GINTHER, O.J. et al. Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. **Theriogenology**, v.24, n.4, p.203-216, 1985.

GRUNERT, E. et al. Distúrbios da reprodução: alterações conseqüentes às interações entre o útero e o concepto. In: _____. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**. São Paulo: Varela, 2005. Cap.10, p. 465-488.

HENNEKE, D.R. 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.

LOPES, M.D. et al. Morte embrionária precoce em éguas: Aspectos clínicos e hormonais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., 1993, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993. v.2, p. 231-380.

PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13, n.3, p.203-216, 1980.

PAPA, F.O. et al. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n.4, p. 170-173, 1998.

SOUZA, F. A.A. et al. Ocorrência de perda embrionária precoce em éguas da raça Mangalarga acasalada por monta natural ou submetida à inseminação artificial. **ARS Veterinária**, v. 17, p. 183-189, 2001.

TAVEIROS, A.W. **Transferência de embriões equinos da raça Mangalarga Marchador**. 2000. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

WOODS, G.L. et al. Early pregnancy loss in brood mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, suppl. 35, p. 455-459, 1987.

CAPÍTULO II

**TAXAS DE PREENHEZ E DE PERDA EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DA RAÇA
MANGALARGA MACHADOR EM DIFERENTES *STATUS* REPRODUTIVOS
UTILIZADAS COMO RECEPTORAS EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÕES**

M.C. Rabelo, A.W. Taveiros, P.R.M. Melo, R.M. Chaves, E.R. Santos Junior, C.R. Aguiar Filho, F.Q.G. Bezerra, J.M. Almeida Irmão, L.M. Freitas Neto, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira

Taxas de prenhez e de perda embrionária em éguas da raça Mangalarga Machador em diferentes *status* reprodutivos utilizadas como receptoras em programas de transferência de embriões

(Pregnancy rates and embryonic loss in Mangalarga Machador mares of different reproductive status used as recipients in programs of embryo transfer)

MC Rabelo¹; AW Taveiros², PRM Melo³; RM Chaves¹; ER Santos Junior¹; CR Aguiar Filho¹; FQG Bezerra¹; JM Almeida Irmão¹; LM Freitas Neto¹; PF Lima¹; MAL 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. CEP 52171-900 Recife-PE/Brasil.

²Regimento de Polícia Montada Dias Cardoso. Av. General San Martin, s/n, Bongi. CEP 50.761 000 Recife-PE/Brasil.

³Médica Veterinária Autônoma.

Resumo

Objetivou-se com este estudo avaliar as taxas de prenhez e perda embrionária em éguas da raça Mangalarga Marchador em diferentes *status* reprodutivos utilizadas como receptoras em programas de transferência de embriões (TE). Entre os anos de 2004 e 2005, foram utilizadas um total de 71 fêmeas, sendo, 10 éguas pluríparas como doadoras de embriões e como receptoras, 21 fêmeas nulíparas, 20 pluríparas lactantes e 20 pluríparas não lactantes. As colheitas embrionárias foram realizadas no 8º dia após a ovulação das doadoras e os embriões imediatamente transferidos para as receptoras. Os diagnósticos de gestação por ultrassonografia foram realizados no 7º dia após as TE, repetindo os exames nos dias 20, 25 e 30 da gestação. O total de prenhez diagnosticada no 7º dia após a TE e de perda embrionária no 30º dia de gestação foram 67,21% (41/61) e 39,02% (16/41), respectivamente. Com relação ao *status* reprodutivo, as taxas de prenhez e de perda embrionária, não evidenciaram diferenças significativas ($P > 0,05$). Quanto à faixa etária, as fêmeas com mais de 11 anos exibiram taxa de prenhez menor ($P < 0,05$) do que às de faixas entre 6 e 8 anos e entre 9 e 11 anos e apresentaram perda embrionária significativamente maior ($P < 0,05$) do que as de faixa inferior. Com relação aos períodos gestacionais em que ocorreram as perdas embrionárias, não foram constatadas diferenças significativas ($P > 0,05$). Os dados obtidos neste estudo permitem concluir que éguas da raça Mangalarga Marchador independente do *status* reprodutivo podem ser utilizadas com êxito como receptoras em programas de TE, porém, não é recomendável, que fêmeas com idade acima de 11 anos sejam utilizadas para essa função.

Palavras-chave: Equinos, transferência de embriões, faixa etária, gestação.

Abstract

The aim of this study was evaluate the pregnancy rates and embryonic losses in Mangalarga Marchador mares of different reproductive *status* used as recipients in programs of embryo transfer (ET). Between the years 2004 and 2005 have been used pluriparous 10 mares as donors of embryos and recipients, 21 nulliparous females, 20 pluriparous in lactation and 20 not lactating pluriparous. On The 8th day after ovulation were performed the embryos recovered of the donors and immediate transfer to the recipients. The diagnosis of pregnancy by ultrasound was conducted by the 7th day after the ET, repeating the tests on days 20, 25 and 30 of pregnancy. The total pregnancy diagnosed in the 7th day after ET and embryo loss in the 30th day of gestation was 67.21% (41/61) and 39.02% (16/41), respectively. With regard to the reproductive *status*, the rates of pregnancy and embryonic loss, did not show significant differences ($P > 0.05$). As for the age group, females with more than 11 years showed lower pregnancy rate ($P < 0.05$) than on the track between 6 and 8 years and between 9 and 11 years old and embryo loss had significantly higher ($P < 0.05$) than those in the lower range. With regard to gestational periods in which the embryonic losses occurred were not found significant differences ($P > 0.05$). Data obtained in this study suggests that Mangalarga Marchador mares regardless of reproductive *status* can be used successfully as recipients in programs for ET, but, is not recommended that females aged over 11 years are used for this function.

Key words: equines, embryo transfer, age group, gestation.

Introdução

A utilização de TE em equinos tem aumentado constantemente nas duas últimas décadas principalmente no Brasil, onde o benefício dessa técnica tem sido reconhecido e aceito pela maioria das associações de criadores de equinos, permitindo assim o seu uso (LOSINNO e ALVARENGA, 2006). Entretanto, a perda embrionária precoce tem-se mostrado como o maior fator de sub-fertilidade e de redução da eficiência reprodutiva em éguas, ocasionando grandes perdas econômicas em programas de TE (BALL, 1993; ROCHA et al., 2007).

Registros encontrados na literatura indicam que perdas embrionárias precoce ocorrem em 5 a 45% das gestações (BALL, 1993). Em um programa de TE as taxas de prenhez e de

perda embrionária são influenciadas por uma variabilidade de fatores como o método de transferência (SQUIRES et al., 1999; JASKO, 2002), o técnico (CARNEVALE et al., 2000; LOSINNO e ALVARENGA, 2006) , o tamanho, a idade e a morfologia do embrião (CARNEVALE et al., 2000; SQUIRES et al., 2003), a nutrição (SQUIRES et al., 1999; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), o clima (BALL, 1993), a sincronização entre doadoras e receptoras (JACOB et al., 2002; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), os procedimentos de cultivo e armazenagem de embriões (SQUIRES et al., 2003), a idade e história reprodutiva de doadoras e receptoras de embriões (SQUIRES et al., 2003; LOSINNO e ALVARENGA, 2006), o método e intervalo de detecção da prenhez (McKINNON et al., 1988) e o grupo de animais em estudo (CARNEVALE et al., 2000; TAVEIROS et al., 2003; ALONSO et al., 2005).

A utilização da ultra-sonografia nos diferentes eventos reprodutivos tem contribuído para aumentar a eficiência da TE em equinos, tornando possível a visualização de folículos ovarianos, da vesícula embrionária, do feto (PALMER e DRIANCOURT, 1980; SQUIRES et al., 1988; TAVEIROS et al., 2003) e identificação do sexo fetal (WOLF e GABALDI, 2002), permitindo ainda, acompanhar a evolução da gestação, perda do concepto e eventuais problemas reprodutivos (FERREIRA et al., 1999; WOLF e GABALDI, 2002; TAVEIROS et al., 2003).

Considerando que a perda embrionária é um problema que causa a diminuição da eficiência reprodutiva em equinos e o limitado número de relatos sobre o uso de éguas nulíparas, pluríparas lactantes e pluríparas não lactantes como receptoras em programas de TE, objetivou-se com este estudo avaliar as taxas de prenhez e perda embrionária em éguas da raça Mangalarga Marchador em diferentes *status* reprodutivos utilizadas como receptoras em programas de TE.

Material e Métodos

O experimento foi realizado entre janeiro de 2004 e janeiro de 2005, na Fazenda Pedra Verde, localizada no Município de Limoeiro-PE, a 07°52'29" S de latitude e 35°27'01" W de longitude, região Agreste Setentrional do Estado de Pernambuco, com temperatura média em torno de 24°C e precipitação pluviométrica média anual de 1.248 mm³.

Foram utilizadas como doadoras 10 éguas pluríparas da raça Mangalarga Marchador com idade variando de 05 a 15 anos e como receptoras 61 éguas da mesma raça pertencentes a diferentes propriedades, sendo, 21 nulíparas, 20 pluríparas lactantes e 20 pluríparas não lactantes com idade variando entre 3 e 12 anos.

As éguas doadoras de embrião foram submetidas a um manejo intensivo e racionadas a base de Tifton (*Cynodon* spp.), capim Pangola (*Digitaria decumbes*), Alfafa (*Medicago sativa*) e suplementadas com 4 kg/dia de ração comercial (Corcelina - Purina[®]/São Lourenço da Mata-PE), além de água e sal mineral (Coequisalplus – Tortuga[®]/São Paulo-SP) *ad libitum*.

As éguas receptoras de embrião foram mantidas em piquetes formados por capim Pangola (*Digitaria decumbens*), sendo suplementadas com 4 kg/dia de ração comercial (Corcelina - Purina[®]/São Lourenço da Mata-PE), além de água e sal mineral (Coequisalplus – Tortuga[®]/São Paulo-SP) *ad libitum*.

Todas as fêmeas, com condição corporal entre 5 e 7 na escala de 1-9, conforme sugerido por Henneke et al. (1983), foram submetidas ao exame clínico-ginecológico e a palpação retal em dias alternados com auxílio de ultra-som (ALOKA SSD-500 Tóquio/Japão) com transdutor linear de 5 MHz para identificação de alterações endometriais, estro e controle da ovulação. Sendo utilizadas neste estudo, apenas aquelas que, não evidenciavam presença de líquidos no útero e/ou alterações endometriais que comprometesse a fertilidade.

As doadoras e receptoras tiveram o ciclo estral sincronizado com aplicação por via intramuscular de 5 mg de PGF₂α (Lutalyse - Pfizer®/Paulínia-SP), buscando um intervalo de -1 até +3 dias da ovulação da receptora e em relação a ovulação da doadora como sugerido por Squires, (1993).

A partir da detecção do estro com auxílio de rufião, as doadoras foram inseminadas em dias alternados até a ovulação, com sêmen fresco de garanhão de fertilidade comprovada, na dose inseminante de 500 x 10⁶ espermatozóides viáveis.

Os embriões foram colhidos no 8^o dia após ovulação, pelo método transcervical aberto, introduzindo-se a sonda (BIVONA – St. Paul/Minnesota) pela cérvix até o corpo do útero, o balão foi inflado e fixado nas paredes desse órgão. As lavagens uterinas foram implementadas, utilizando-se 3 litros de solução Ringer-Lactato dividida em 3 frações de acordo com Fleury et al. (2001).

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, conforme Squires (1993). Imediatamente após a colheita, as doadoras receberam uma dose de PGF₂α (Lutalyse - Pfizer®/Paulínia-SP), via intramuscular, para indução da luteólise.

Os embriões encontrados foram transferidos para uma placa de Petri contendo meio de cultura (TQC – Nutricell, Nutrientes LTDA®/Campinas-SP). Sob lupa estereoscópica foram avaliados quanto ao estágio de desenvolvimento e qualidade morfológica segundo Mckinnon e Squires (1988). Somente aqueles classificados de grau I a III foram transferidos para as receptoras, num período de até duas horas conforme sugerido por Mckinnon et al. (1988).

Os embriões (n = 61) foram transferidos para receptoras nulíparas (n = 21), pluríparas lactantes (n = 20) e pluríparas não lactantes (n = 20).

O diagnóstico de gestação foi realizado no 7^o dia após a transferência do embrião por palpação retal e ultra-sonografia, sendo todas as fêmeas monitoradas para confirmação do diagnóstico nos dias 20, 25 e 30 da gestação.

As taxas de prenhez e de perda embrionária relativas ao *status* reprodutivo, a faixa etária e ao período gestacional foram analisadas pelo teste do Qui-quadrado (χ^2) em nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Das 61 transferências realizadas 41(67,21%) resultaram em prenhez diagnosticadas no 7^o dia após a TE (Tabela 1), resultado inferior aos 70,3% obtidos por Jacob et al. (2002) no 14^o dia de gestação, aos 82,5% observados por Jasko, (2002) no 8^o após a TE e aos 73,4% observados por Rocha et al. (2007) no 15^o dia de gestação, porém, superior aos 50,0% obtidos por Taveiros, (2000) no 45^o dia de gestação, aos 65,7% observados por Carnevale et al. (2000) no 12^o dia de gestação e aos 51% registrados por Taveiros et al. (2003) no 30^o dia de gestação.

Em 41 prenhez monitoradas até o 30^o dia gestação 16 (39,02%) resultaram em perda embrionária (Tabela 1), resultado inferior aos 62% observados por Carnevale e Ginther (1992) no 39^o dia de gestação e aos 49% obtidos por Taveiros et al. (2003) no 30^o dia de gestação, porém, superior aos 17,5 % observados por Villahoz et al., (1985) no 50^o dia pós-ovulação, aos 15,5% referidos por Carnevale et al. (2000) no 50^o dia de gestação, aos 4,8% observados por Rocha et al. (2007) aos 30 dias de gestação e aos 11,9% referidos por Taveiros et al. (2008) aos 45 dias de gestação.

As diferenças encontradas na literatura podem estar relacionadas às condições de trabalho de cada autor, bem como, heterogeneidade dos animais, manejo, nutrição, condições edafo-climática, saúde do trato reprodutivo, método de transferência, manipulação e

morfologia do embrião, sincronização entre doadoras e receptoras, método e intervalo de detecção da prenhez, sem descartar a possível influência da variabilidade da assistência clínica-veterinária recebidas pelos distintos haras.

Neste estudo, o fato das receptoras não pertencerem todas do mesmo estabelecimento pode ter influenciado nos resultados, uma vez, que receptoras oriundas do próprio estabelecimento podem proporcionar obtenção de boas respostas (Taveiros, 2000).

A colheita embrionária foi realizada no 8^o dia após a ovulação, esse fato, provavelmente, não interferiu nos resultados, uma vez que não há diferenças nas taxas de perdas de prenhez quando as colheitas são realizadas no 7^o, 8^o ou 9^o dia após a ovulação (FLEURY, 1998; FLEURY et al., 2001), ressaltando, que a colheita realizada no 8^o dia tende a aumentar a taxa de recuperação embrionária (FLEURY e ALVARENGA, 1999).

A influência da idade das doadoras (05 a 15 anos) nos resultados deste estudo foi descartada, pois, embriões originados de éguas velhas (> 18 anos) têm chances de permanecerem viáveis idênticas aos originados de éguas jovens, apresentando similares taxas de perdas embrionárias até o 40^o dia de gestação (ALONSO et al., 2005).

As doadoras e receptoras tiveram o ciclo estral sincronizado buscando um intervalo de -1 até +3 dias da ovulação da receptora em relação à ovulação da doadora (McKINNON et al., 1988; SQUIRES, 1993), esse fato, provavelmente não interferiu nos resultados deste estudo, mesmo porque, em programas de TE pode ser usado o grau de sincronia da ovulação entre receptoras e doadoras (-1 a +5) sem afetar a taxa de prenhez (JACOB et al., 2002).

A qualidade do embrião equino é considerada um dos fatores que mais afeta as taxas de prenhez nos programas de TE (SQUIRES et al., 2003). De acordo com Taveiros et al. (2008) a baixa porcentagem de perda embrionária registrada em seus estudos deveu-se a utilização exclusiva de estruturas classificadas entre grau I e III, neste contexto, qualidade dos embriões influenciou positivamente os resultados aqui obtidos.

Com relação ao *status* reprodutivo, as taxas de prenhez e perda embrionária foram, respectivamente, 71,43% (15/21) e 26,66% (4/15) para fêmeas nulíparas, 55,00% (11/20) e 63,33% (7/11) para pluríparas lactantes e de 75,00% (15/20) e 33,33% (5/15) para as pluríparas não lactantes (Tabela 1).

De acordo com Sertich, (1989), é recomendável a utilização de éguas nulíparas como receptoras em programas de TE, por apresentarem uma cérvix longa e fechada, denominada de funcionalmente competente, sendo também possível, o uso com sucesso de éguas em lactação a partir do 30^o dia de parição (WILSON et al., 1987). Entretanto, Taveiros (2000) e Taveiros et al. (2003) ressaltam não haver diferenças entre os índices de fertilidade de éguas receptoras nulíparas, pluríparas lactantes ou pluríparas não lactantes.

Corroborando com as observações de Taveiros (2000) e Taveiros et al. (2003), neste estudo, também não foram identificadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre esses parâmetros. Contudo, em termos de valores absolutos, as éguas pluríparas lactantes foram as que apresentaram o menor desempenho reprodutivo. De acordo com Grunert et al. (2005) a influência negativa da lactação devido a produção excessiva de leite pode interferir na implantação do conceito, é possível que esse fato tenha contribuído para os resultados obtidos com esse grupo de fêmeas.

Tabela 1 – Taxas de prenhez diagnosticadas no sétimo dia após a TE e de perda embrionária até o 30^o dia de gestação em receptoras Mangalarga Marchador, de acordo com o *Status* Reprodutivo.

<i>Status</i> Reprodutivo	TE (N)	Prenhez		Perda embrionária	
		(N)	(%)	(N)	(%)
Nulíparas	21	15	71,43	4	26,66
Pluríparas lactantes	20	11	55,00	7	63,63
Pluríparas não lactantes	20	15	75,00	5	33,33
Total	61	41	67,21	16	39,02

Diferenças não significativas pelo teste do χ^2 ($P > 0,05$).

No que concerne a faixa etária, as taxas de prenhez e perda embrionária foram, respectivamente, 68,75% e 36,36% para fêmeas entre 3 e 5 anos, 80,00% e 25,00% para fêmeas entre 6 e 8 anos, 76,47% e 30,76% para fêmeas entre 9 e 11 anos e 38,46% e 100,00% para fêmeas com mais de 11 anos (Tabela 2).

As fêmeas com mais de 11 anos que tiveram taxa de prenhez menor ($P < 0,05$) do que às de faixas etárias entre 6 e 8 anos e entre 9 e 11 anos. Estes achados, estão de acordo com as observações de Carnevale e Ginther (1992) os quais, relataram que as taxas de prenhez são maiores em éguas jovens (5 a 7 anos) do que em éguas velhas (≥ 15 anos), diferindo do relato de Carnevale et al. (2000) que não encontraram diferenças entre as taxas de prenhez de receptoras na faixa etária entre 2 e 9 anos em relação as de idade compreendida entre 10 e 18 anos.

Entretanto, no que se refere à perda embrionária, as éguas com mais de 11 anos apresentaram perdas significativamente maiores ($P < 0,05$) do que as de faixa etária inferior, achado que corrobora com os relatos de Carnevale e Ginther (1992) e de Carnevale et al. (2000) os quais, observaram que éguas com idade ≥ 15 anos ou com mais de 10 anos de idade, respectivamente, apresentam perdas embrionária significativamente maior dos que as de menor faixa etária.

De acordo com esses autores, a baixa qualidade do ambiente uterino pode estar associada à senilidade das receptoras (fêmeas com mais de 10 anos) influenciando a redução da taxa de prenhez (CARNEVALE e GINTHER, 1992) e o acréscimo da perda embrionária (CARNEVALE e GINTHER, 1992; CARNEVALE et al., 2000).

Tabela 2 – Taxas de prenhez diagnosticadas no sétimo dia após a TE e de perdas embrionárias até o 30º dia de gestação em receptoras Mangalarga Marchador função da faixa etária.

Faixa etária (Anos)	TE (N)	Prenhez		Perdas embrionárias	
		(N)	(%)	(N)	(%)
3 a 5	16	11	68,75 ^{ab}	4	36,36 ^a
6 a 8	15	12	80,00 ^a	3	25,00 ^a
9 a 11	17	13	76,47 ^a	4	30,76 ^a
> 11	13	5	38,46 ^b	5	100,00 ^b
Total	61	41	67,21	16	39,02

Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas pelo teste do χ^2 ($P < 0,05$).

No que se concerne ao período de gestação, as taxas de perda embrionária de 17,07%, 14,70% e 13,79%, observadas para os períodos gestacionais entre 15 a 20 dias, entre 21 a 25 dias e entre 26 e 30 dias, respectivamente, não evidenciaram diferenças significativas ($P > 0,05$) (Tabela 3). Contudo, em termos de valor absoluto, a maior perda foi verificada no período entre 15 a 20 dias de gestação, esses achados estão compatíveis com as observações de Villahoz et al. (1985), Carnevale et al. (2000) e Taveiros et al. (2008) os quais, observaram maior ocorrência de perda embrionária nos períodos gestacionais de 15 a 20 dias, de 17 a 25 dias e de 21 a 30 dias respectivamente.

O resultado obtido neste estudo pode ser explicado por uma possível falha na interação entre o embrião e o organismo materno ocasionando o não reconhecimento materno da prenhez nesse período gestacional (GINTHER et al., 1985; BALL, 1993; GAIVÃO e STOUT, 2007), ou ainda devido a um possível retardo no desenvolvimento embrionário como reportado por Carnevale et al. (2000) e Taveiros et al. (2003).

Tabela 3 – Perdas embrionárias em receptoras da raça Mangalarga Marchador em diferentes períodos de gestação.

Período da gestação (Dias)	Prenhez (N)	Perdas embrionárias	
		(N)	(%)
15 a 20	41	7	17,07
21 a 25	34	5	14,70
26 a 30	29	4	13,79

Diferenças não significativas pelo teste do χ^2 ($P > 0,05$).

Conclusões

Os dados obtidos neste estudo permitem concluir que éguas da raça Mangalarga Marchador independente do *status* reprodutivo podem ser utilizadas com êxito como receptoras em programas de TE, porém, não é recomendável, que fêmeas com idade acima de 11 anos sejam utilizadas para essa função.

Referências

- ALONSO, M.A. et al. Effect of donor mare's age in embryonic loss rate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, Supl. 1, p.203, 2005
- BALL, B.A. Embryonic death in mares. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap. 61, p.517-531.
- CARNEVALE, E.M. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 54, p. 965-979, 2000.
- CARNEVALE, E.M.; GINTHER, O.J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. **Theriogenology**, v. 37, p. 1101-1115, 1992.

FERREIRA, J.B.P. et al. Incidência e caracterização ultra-sonográfica da morte embrionária em éguas da raça Campolina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.202-203, 1999.

FLEURY, J.J. Transferência não cirúrgica de embriões equinos colhidos no oitavo dia pós-ovulação. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.26, n.1, p.266, 1998.

FLEURY, J.J.; ALVARENGA, M.A. Effects of collection on embryo recovery and pregnancy rates in nonsurgical equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 51, p. 261, 1999.

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

GAIVÃO, M.M.F.; STOUT, T.A.E. Maternal recognition of pregnancy in the mare – a mini review. **Revista Lusófona Ciência e Medicina Veterinária**, v.1, p. 5-9, 2007.

GINTHER, O.J. et al. Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. **Theriogenology**, v.24, n.4, p.203-216, 1985.

GRUNERT, E. et al. Distúrbios da reprodução: alterações conseqüentes às interações entre o útero e o concepto. In: ____. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**. São Paulo: Varela, 2005. Cap.10, p. 465-488.

HENNEKE, D.R. 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.

JACOB, J.C.F. et al. The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v.57, p. 545, 2002.

JASKO, D.J. Comparison of pregnancy rates following nonsurgical transfer of day 8 equine embryos using various transfer devices. **Theriogenology**, v.58, p.713-715, 2002.

LOSINNO, L.; ALVARENGA, M.A. Critical factors on equine embryos transfer programs in Brazil and Argentina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p. 39-49, 2006.

McKINNON, A.O. et al. Equine embryo transfer: A review. **Compendium Continuing Education Practice Veterinary**, v.10, n.3, p. 343-355, 1988.

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

PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13, n.3, p.203-216, 1980.

ROCHA, A.N. et al. Taxas de Prenhez e perda embrionária precoce em programa comercial de transferência de embriões (TE) em éguas da raça Mangalarga Marchador. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 17., 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2007. p. 160.

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

SQUIRES, E.L. Embryo transfer. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. Cap.41, p.357-367.

SQUIRES, E.L. et al. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, v. 59, p. 151-174, 2003.

SQUIRES, E.L. et al. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 51, p. 91-104, 1999.

SQUIRES, E.L. et al. Use of ultrasonography in reproductive management of mares. **Theriogenology**, v. 29, p. 55-70, 1988.

TAVEIROS, A. W. **Transferência de embriões equinos da raça Mangalarga Machador**. 2000. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

TAVEIROS, A.W. et al. Perda de concepto em programa de inseminação artificial e de transferência de embriões em equinos da raça Mangalarga Marchador. **Medicina Veterinária**, v. 2, n.2, p.28-33, 2008.

TAVEIROS, A.W. et al. 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.

VILLAHOZ, M.D. et al. Some observations on early embryonic death in mares. **Theriogenology**, v.23, p. 915-924, 1985.

WILSON, J.M. et al. Successful non-surgical transfer of equine embryos to post-partum lactating mares. **Theriogenology**, v. 27, n. 1, p. 295, 1987.

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

