





Taxa de concepção de éguas cíclicas utilizadas como receptoras de embriões tratadas com progesterona

Taxa de concepção de éguas cíclicas utilizadas como receptoras de embriões tratadas com progesterona

Recebido: 19/04/2019 | Aceito: 16/12/2019 | Publicado: 20/12/2019

Fernando Silva Ramos


 <https://orcid.org/0000-0002-0316-2692>


 <http://lattes.cnpq.br/3064097564501875>

Facisa Unai - Faculdade de Ciências da Saúde de Unai, MG, Brasil

E-mail: fernandoramosunai@hotmail.com

Lysandra Martineli Fonseca

 <https://orcid.org/0000-0003-4710-3587>

 <http://lattes.cnpq.br/4244807340562287>

Facisa Unai - Faculdade de Ciências da Saúde de Unai, MG, Brasil

E-mail: lysandra.fonseca@facisaunai.edu.br

Resumo

As biotecnologias reprodutivas aplicadas na equinocultura permitiram a otimização dos índices reprodutivos elevando o número de produtos de éguas com alto valor zootécnico em uma estação de monta e ainda permitindo com que estas se reproduzam sem que se ausentem de suas atividades esportivas por meio de técnicas como a transferência de embriões. Objetivou-se neste trabalho demonstrar que uso de do hormônio progesterona em éguas receptoras de embriões produz efeitos benéficos significativos no que tange as taxas de concepção destes animais, potencializando o avanço da técnica, reduzindo custos com a ressincronização de doadoras e receptoras, logística de sêmen além de permitir um melhor aproveitamento de receptoras disponíveis. Para a realização deste experimento foram utilizados 80 equinos sem raça definida, fêmeas, divididos em dois grupos, um sem o uso de progesterona injetável e outro com uso de progesterona injetável. Foram avaliados o grau de edema uterino no momento das inovulações, e a taxa de concepção aos 13 e 40 dias após as inovulações. Houve efeito entre os tratamentos para os parâmetros avaliados, tendo apresentado melhores resultados o tratamento utilizando progesterona.

Palavras- chave: Progesterona. Reprodução. Transferência de embriões.

Abstract

The reproductive biotechnologies applied in equinoculture allowed the optimization of reproductive indexes, increasing the number of products of mares with high zootechnical value in a breeding season and still allowing them to reproduce without being absent from their sporting activities through techniques such as embryo transfer. The objective of this work was to demonstrate that the use of the hormone

progesterone in embryo recipient mares produces significant beneficial effects regarding the conception rates of these animals, potentiating the advancement of the technique, reducing costs with donor and recipient resynchronization, semen logistics besides allowing a better use of available receivers. In order to carry out this experiment, 80 female mixed breed horses were used, divided into two groups, one without the use of injectable progesterone and the other with the use of injectable progesterone. The degree of uterine edema at the time of the innovations and the conception rate at 13 and 40 days after the innovations were evaluated. There was an effect between treatments for the evaluated parameters, with treatment using progesterone showing better results.

Key-words: *Progesterone. Reproduction. Embryo transfer.*

1. Introdução

A Equinocultura apresenta visível representatividade econômica no território nacional, principalmente pelo fato de que o cavalo possui singular representatividade, desde tempos remotos no desenvolvimento do país, como na era do Brasil Colonial, sendo utilizado como forma de locomoção, meio de tração, exploração do solo e também em guerras. Os equinos ainda nos tempos atuais demonstram notória relevância, sendo ainda um meio para o trabalho no campo, lazer e esporte.

A espécie equina é poliéstrica estacional, ou fotoperiódica positiva, ou seja, as éguas apresentam diversos cio em determinados períodos do ano, os quais são manifestos em períodos de maior luminosidade, onde a luz ao penetrar a retina inibe a produção de melatonina, hormônio responsável por inibir a liberação de GnRH, que leva naturalmente ao anestro estacional.

Os eqüinos são considerados como a espécie de menor fertilidade quando comparada as demais espécies, já que possuem peculiaridades fisiológicas que repercutem negativamente nas taxas de concepção da espécie, reduzindo de forma considerável o sucesso de programas reprodutivos como a transferência de embriões.

Pesquisas e várias estratégias vem sendo implementadas ao longo dos anos no intuito de elevar os índices reprodutivos em equinos, especialmente métodos e técnicas que visam aperfeiçoar a biotecnologia da transferência de embriões na espécie. Tecnologias como protocolos hormonais utilizando progestágenos exógenos tem sido uma alternativa viável e satisfatória, elevando as taxas de gestação de receptoras inovuladas.

Diversos fatores exógenos e endógenos contribuem com o déficit ou instabilidade plasmática das concentrações de progesterona em receptoras de embrião, os quais podem resultar na morte embrionária ocasionada pela liberação endógena materna de prostaglandina do tipo PGF2a e pela inapetência uterina momentânea de albergar o embrião e levar a termo a gestação. Nesse contexto objetivou-se comprovar a efetividade do uso do hormônio progesterona sobre as taxas de gestação de éguas receptoras em programa de transferência de embriões, tendo como método comparativo um grupo controle nos quais não se utilizou o hormônio descrito.

2. Referencial teórico

2.1 Mercado de Equinos no Brasil

O Brasil possui o quarto maior rebanho equino mundial e o maior de toda a América Latina, apresentando cerca de 5,8 milhões de cabeças, movimentando anualmente no país 16 bilhões de reais ao ano e gerando algo em torno de 610 mil empregos diretos e indiretos (Anualpec, 2017). Alicerçada por caráter econômico, político e social a atividade no país apresenta visibilidade relevante na pecuária, reconhecida como “Complexo do Agronegócio do Cavalo” (Mapa, 2016).

Segundo a última pesquisa realizada em 2009 pela *American HorsePublications*, mundialmente a indústria do cavalo tem impacto econômico de 300 bilhões de dólares. De acordo com os levantamentos de todos os países mencionados pela FAOSTAT (2007) e os maiores rebanhos mundiais atualizados pela FAO (2009), a população mundial está estimada em mais de 59 milhões de equídeos, sendo que 5 países possuem 54% do total destes animais. Os 5 países mencionados detentores dos maiores rebanhos são: Estados Unidos (aproximadamente 9.500.000 indivíduos); China (6.823.360); México (6.350.000); Brasil (5.851.238 - IBGE, 2016); Argentina (3.680.000).

No âmbito mundial a equinocultura tem representado papel importante na economia das nações, tal fator se atribui não somente ao apego de pessoas em trabalhar com estes animais, como também pelo fato da indústria do cavalo apresentar extensa diversificação conectando áreas e requisitando dos profissionais, diferentes tipos de especialidades, educação e habilidades. Assim o complexo do agronegócio equestre não abrange apenas o cavalo como hobby, mas também a nutrição, publicidade, produção, cuidados veterinários, moda e diversos outros campos que tornam a indústria dos equinos um empreendimento multimilionário (Dias, 2016).

Levando em conta o fato de que existe uma série de cadeias unidas a essa produção o agronegócio envolvendo equinos não se enquadra na estrutura padrão de um agronegócio. Estudos pioneiros sobre o agronegócio do cavalo feitos pela Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil - CNA (2006) relataram que a equinocultura deve ser classificada como um complexo agropecuário.

A cadeia produtiva equina alicerça inúmeras atividades e está visivelmente dividida em segmento rural – criação, treinamento, manutenção, e equitação – e segmento de atividades urbanas – esportes, shows, apresentações, vendas e terapia. Se associados, ambos os segmentos representam a maior parte da população equina, com micro-fazendas, departamentos de polícia montada, circos, zoológicos e alguns outros grupos menores representando o restante da população, tal flexibilidade tornou o cavalo altamente valioso para os seres humanos, estas características também possuem a capacidade de tornar a indústria equina altamente desafiadora quando se trata da atualização de números, tanto da própria população, como também do envolvimento na economia da atividade (Bluman, 2017).

2.2 Histórico da transferência de embriões

Nos tempos atuais a equideocultura possui um importante papel de destaque na economia global como fonte geradora de emprego e renda. No Brasil, a categoria vivencia um momento de progressivo crescimento. Com o mercado de equinos visivelmente aquecido, a demanda de animais com genética superior e com bom desempenho em provas esportivas aumentou consideravelmente (Cna, 2010).

A espécie eqüina foi por tempos considerada a espécie de menor fertilidade quando comparada as demais espécies domésticas, sendo tal fator atribuído a características de seleção e problemas relacionados a manejo reprodutivo. Entretanto a criação de técnicas reprodutivas inovadoras permitiu o melhor aproveitamento destes animais o que torna possível aprimorar de forma rápida as raças e seus cruzamentos, sendo a técnica de transferência de embriões a ferramenta com melhor efetividade gerando índices reprodutivos satisfatórios. Tornando-se um método cada vez mais corriqueiro para obtenção de prenhez (Silva, 2014)

Dessa forma destacam-se as biotecnologias da reprodução assistida, as quais possuem importância singular para atendimento da demanda de animais superiores, otimizando os índices reprodutivos e melhorando a genética dos animais. Dentre várias técnicas de reprodução assistida aplicada a equinos, destaca-se a transferência de embriões que é uma realidade em todo o mundo e consiste na retirada de um embrião do útero de uma égua, esta chamada doadora, e em seguida transferi-lo para o útero de outra égua, chamada de receptora. (Silva, 2014).

No ano de 1969, os primeiros estudos envolvendo a transferência de embriões na espécie eqüina, foram realizados por um grupo de pesquisadores japoneses. Este mesmo grupo relatou mais tarde, em 1972, uma taxa de 45% de recuperação embrionária, porém sem nenhuma concepção de prenhez confirmada, após anos estes mesmos pesquisadores conseguiram chegar a um percentual de concepção de 40% dos embriões transferidos, ainda dando continuidade a linha de pesquisa, onde utilizaram 20 éguas doadoras, coletando 18 embriões, sendo 15 embriões viáveis transferidos pelo método não-cirúrgico transcervical, para éguas receptoras em sincronismo de -5 a +7 dias, em relação às éguas doadoras (Silva, 2014).

No mundo as primeiras tranferências de embriões realizadas em equinos e classificadas como sendo bem sucedidas, ocorreram nos anos 70 em Cambridge, Inglaterra, ocorrendo entre equinos e muares, onde os embriões eram coletados e transferidos por cirurgia via laparotomia, pelo flanco ou linha média (Allen, 2005).

Segundo relata Silva (2015), ocorreu no Japão a técnica de transferência não cirúrgica em éguas pela primeira vez, já que as técnicas de inovulação até então eram realizadas por métodos cirúrgicos, por meio de laparotomia sendo muito invasiva. A partir disso essa técnica passou a ser difundida em diversos países do mundo, sendo considerada uma das biotécnicas mais utilizadas na reprodução assistida de eqüinos por ser classificada como menos invasiva e mais prática, quando comparada a técnica cirúrgica apresentando estatisticamente índices mais representativos.

No Brasil em 1987, a técnica iniciou-se na espécie eqüina, onde os grandes responsáveis foram o Médico Veterinário João Junqueira Fleury, e Cezinande Meira e Marc Henry, os quais lançaram mão dos métodos cirúrgico e não-cirúrgico, respectivamente para realização das tranferências (Fleury *et al.*, 1991).

2.3 Abordagem Anatômica Reprodutiva

Teske (2017) o conhecimento anatômico do aparelho reprodutivo da égua é de grande importância para execução da técnica, no intuito de se alcançar sucesso em um manejo reprodutivo e diminuir perdas econômicas. O aparelho reprodutivo da égua é composto por dois ovários, dois ovidutos, dois cornos uterinos, corpo do útero, cérvix, vagina e vulva.

Os ovidutos vão desde os extremos dos cornos uterinos seguindo até alcançar à fossa da ovulação, dividindo-se em ampola, que cobre a fossa da ovulação, e

istmo, que termina numa papila na extremidade do corno uterino. Os cornos uterinos possuem um formato designado “V” e se divergem acentuadamente a partir do ligamento. Na égua não gestante o útero tem aproximadamente 20 cm de tamanho terminando na cérvix (Teske, 2010)

A cérvix se estende desde o orifício interno do útero até ao orifício externo localizado na vagina que se estende até a vulva. Preconiza-se que a vulva tenha uma posição vertical sem nenhum desvio e os lábios vulvares devem coaptar-se completamente, não permitindo a entrada de ar na vagina impedindo a ocorrência de pneumovagina (Ley, 2013).

O estudo dos órgãos reprodutivos do garanhão também se torna fator relevante para reprodução equina conforme cita Dittrich (2010) sendo este sistema constituído pelos testículos, epidídimo, canal deferente, uretra (pélvica e peniana), pênis e prepúcio.

O garanhão possui três glândulas acessórias importantes: as vesículas seminais, as quais tem função de produzir a maior parte do sêmen, servindo para o transporte e nutrição dos espermatozóides; a próstata, com função de neutralizar o pH ácido da vagina; e as glândulas bulbouretrais, que higienizam a uretra e ao final da ejaculação secretam uma espécie de “tampão”, que é espermicida e tem função de diminuir as chances de que ocorra a fecundação por outros machos (Dittrich, 2010).

2.4 Fisiologia Reprodutiva

A espécie eqüina é denominada poliéstrica sazonal, apresentando ciclo reprodutivo constante em uma determinada época do ano, sendo este período o que apresenta maior luminosidade (Diniz, 2011). O processo de seleção natural programou o sistema nervoso central da égua para reconhecer o comprimento do dia, através do reconhecimento da luminosidade que chega a retina, e por meio desse fator, foram selecionadas para iniciar seu ciclo estral apenas quando os dias forem mais longos sendo na primavera e verão, assim as éguas que se situam mais ao norte ou sul em relação a linha do equador apresentam ciclicidade mais tardia dentro da estação que aquelas que estão situadas mais próximas a linha do equador. Éguas que estão muito próximas a linha do equador apresentam mínima variação estacional quanto a extensão do ciclo estral (Aristizábal, 2017).

Nas éguas a importância da luminosidade aumentada no período reprodutivo, se deve ao fato de que quando existe maior presença de luz, concomitantemente haverá menor produção do hormônio melatonina pela glândula pineal a qual é regulada por estímulos do nervo óptico, através da recepção ou não de estímulos luminosos externos, com a menor concentração deste hormônio na circulação sistêmica ocorrerá maior produção de GnRH(Hormônio Liberador de Gonadotrofina) pelo hipotálamo, já que a melatonina faz feedback negativo para GnRH no hipotálamo, inibindo a ciclicidade em éguas. O aumento da luminosidade ocorre justamente na primavera/verão e estimula a ciclicidade em eqüinos (Dittrich, 2010).

O hipotálamo tem dentre suas várias atribuições a função de produzir e secretar GnRH, o qual atua na adenohipófise estimulando esta parte da glândula a secretar FSH (Hormônio Folículo Estimulante) e LH (Hormônio Luteinizante), o FSH possui papel de estimular o crescimento folicular, os quais produzirão hormônios esteróides como o estrógeno que permite as manifestações de cio, os folículos na espécie equina crescem cerca de 2 a 3 mm por dia (Lima, 2017). O LH durante o diestro tem concentrações relativamente baixas, entretanto tem aumento de forma progressiva durante os picos de estrógeno que ocorrem durante o estro, o LH

também tem suas funções desempenhadas sobre o corpo hemorrágico, estimulando a produção de progesterona, hormônio com papel fundamental na manutenção gestacional (Teske, 2017).

O período compreendido como ciclo estral é definido como o tempo no qual diversas alterações no sistema reprodutivo das éguas ocorrem, repetindo-se com médias próximas de 22 dias (Frazão, 2017). O ciclo é definido como o intervalo que ocorre entre duas ovulações subseqüentes e se divide nas fases folicular e luteal (Aristizábal, 2017).

O ciclo reprodutivo também denominado ciclo estral pode ser classificado como fase folicular (estro) em que há predominância maior de estrógeno, fase em que as éguas apresentam receptividade aos machos e o trato reprodutivo se encontra apto a copula e também ao transporte de espermatozoides pelo oviduto (Diniz, 2011).

A segunda fase do ciclo reprodutivo é denominada fase luteínica (diestro) em que há a presença de corpo lúteo e dominância do hormônio progesterona, nesta fase a égua já não aceita a cópula e o útero está preparado para a nidação embrionária. Os corpos lúteos primários são aqueles resultantes da ovulação de folículos dominantes de ondas primárias no fim do estro, por outro lado os corpos lúteos secundários são resultados de ovulações de folículos dominantes advindos de ondas secundárias durante o diestro ou durante a gestação. Os corpos lúteos acessórios são advindos da ovulação de folículos de ondas foliculares durante a gestação e /ou da luteinização de folículos anovulatórios. Ambos os corpos lúteos secundários e acessórios são referidos na literatura como corpos lúteos suplementares. A fase de diestro termina quando a regressão do corpo lúteo, ação também denominada de luteólise, com isso ocorrerá o início de uma nova onda folicular dando seqüência ao ciclo reprodutivo (Diniz, 2011).

2.5 Hormonioterapia na Ginecologia de Equinos

O aumento da eficiência reprodutiva é fator de grande relevância na eqüinocultura, tendo em vista o melhor aproveitamento e intensificação do ritmo de melhoramento genético da espécie. As incidências de ovulações têm variação significativa durante o ano em decorrência da sazonalidade reprodutiva equina, dessa forma a hormonioterapia aplicada a ginecologia equina tem papel relevante nas biotecnologias da reprodução (Faria & Gradela, 2010).

2.5.1 Prostaglandinas (PGs)

Hormônio presente em todos os tecidos animais, tem funções diversificadas e integram o grupo dos eicosanóides que derivam do Ácido Aracídico, o qual é clivado por enzimas ciclo-oxigenases e forma um anel pentano recebendo várias disposições geométricas. Os subprodutos gerados através da clivagem do Ácido Aracídico possuem diversas ações metabólicas, processos fisiológicos e patológicos, ovulação, função endócrina, entre outras (Silva, 2012).

Dentre os vários agentes luteolíticos a $PGF_{2\alpha}$ é o agente primário em éguas, pois tem elevada efetividade de luteólise em fêmeas equinas não gestantes que ocorre após sua liberação pelas células endometriais entre os dias 13 e 16 após a ovulação. As prostaglandinas podem ser utilizadas para realizar luteólise em corpos lúteos persistentes ou anestrolactacional, realizar controle do tempo de ovulação, induzir a secreção de gonadotrofinas, sincronizar o estro, tratar éguas com endometrite, eliminar pseudogestação, estimular a contração uterina e promover abortamentos antes da formação dos cálices endometriais. Apesar de diversas vias poderem ser utilizadas para a administração de prostaglandinas a via intramuscular

é a preferida, pois alia praticidade e efeitos colaterais mínimos. Na sincronização e indução de estro, a prostaglandina pode ser aplicada em qualquer fase do ciclo estral em duas doses, com intervalo de 14 dias, ou em dose única, após a detecção de um corpo lúteo maduro, ou, ainda, associada à administração de Progesterona (P4). O corpo lúteo em condições normais é responsivo a prostaglandinas após 4 dias da ovulação, quando este se torna maduro (Neto, 2017).

2.5.2 Estrógenos (E2)

Os estrógenos são hormônios esteróides os quais permitem que sejam manifestos os sinais de estro quando estes apresentam seu pico e são produzidos, principalmente, pelos folículos ovarianos e também pela unidade fetoplacentária, mas por outro lado uma pequena quantidade também é produzida em outras áreas do corpo (Grandela, 2010). A secreção folicular de estrógenos atinge o pico um ou dois dias antes da ovulação e declina até atingir níveis básicos no diestro, ao contrário do que ocorre em outras espécies, a administração de estrógenos não leva à onda pré-ovulatória de LH nem causa marcada supressão do LH (Silva, 2014).

A administração de uma pequena dose de estradiol (0,5 a 1,0 mg) em éguas em anestro profundo é capaz de induzir sinais de estro dentro de 3 a 6 horas, enquanto em éguas com corpo lúteo funcional, sinais de estro não são observados (Neto, 2017).

2.5.3 Progesterona (P4)

O hormônio progesterona é um progestágeno natural produzido pelas células luteínicas do corpo lúteo, pela placenta e pelas glândulas adrenais. Sua secreção é estimulada pelo LH e sua função é promover o encerramento dos sinais de estro, manter a fêmea não receptiva ao macho, preparar o útero para a recepção do embrião e manter a gestação inicial aumentando a atividade secretora das glândulas endometriais e a tonicidade uterina. Além disso, possui capacidade de inibir a liberação episódica de LH quando em níveis elevados, sendo, portanto, um importante regulador do ciclo estral (Hafez, 2004).

O tratamento com o uso de progestágenos sendo oral, injetável ou através de dispositivos intra vaginais impregnados com P4, pode ser usada para controlar o ciclo estral de equinos, objetivando suprimir o crescimento folicular e controlar o momento da ovulação, além de realizar sincronização do cio e da ovulação em éguas cíclicas o P4 pode ser utilizado em diversas funções aplicadas a ginecologia de equinos como por exemplo: na indução da ciclicidade em receptoras em anestro, possibilitando a utilização de éguas em anestro e mulas como receptoras de embrião, melhorando a tonicidade do útero, favorecendo a manutenção da gestação, e suprimindo a manifestação do cio (Frazão, 2017).

A necessidade da criação de protocolos hormonais bem-sucedidos que visão estimular a ciclicidade ovariana para superar o anestro sazonal, tem se tornado almejado na indústria equina, sobretudo nas últimas décadas, uma vez que, diversas biotécnicas, dentre elas a transferência de embrião, vem se expandindo em várias regiões do país (Frazão, 2017).

2.5.4 Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG)

O hCG apresenta atividade fisiológica com funções semelhantes as desempenhadas pelo LH, no entanto este possui conformação protéica diferente do LH, este hormônio tem sido utilizado com eficácia na indução da ovulação em éguas, pois reduz a duração do estro e o intervalo até a ovulação, fazendo com que

esta ocorra dentro de 48h, o que reduz o número de inseminações e a quantidade de coberturas necessárias por estro (Neto, 2017).

É um hormônio peptídico o qual é produzido pela placenta humana, apto para estimular a função luteal e promover a manutenção gestacional em éguas. O uso do hCG em éguas que possuem um folículo préovulatório de no mínimo 35mm de diâmetro, possui efetividade de induzir a ovulação em até 48 horas em cerca de 80% dos animais, apresentando-se como uma forma efetiva de indução da ovulação em éguas, o uso de hCG em éguas com mais de um folículo pré-ovulatório amplia a possibilidade de ocorrência de ovulações duplas (Frazão, 2017).

Se por um lado o hCG possui grande efetividade na indução da ovulação, quando administrado com frequência numa mesma estação de monta, este pode desenvolver levar ao desenvolvimento de anticorpos através da ativação do sistema imune do animal. Alguns autores citam que a via endovenosa de aplicação do hormônio tem menor possibilidade de levar ao desenvolvimento de anticorpos, dessa forma a via intramuscular tem sido descrita como a mais segura para administração do fármaco tendo em vista a diminuição das chances de formação de anticorpos (Frazão, 2017).

2.5.5 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)

O GnRH é um peptídeo produzido e armazenado no hipotálamo médio basal, estabelece ligação entre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal de forma que a resposta à estimulação nervosa, pulsos de GnRH são liberados no sistema porta-hipotálamo-hipofisário induzindo a hipófise anterior a liberar LH e FSH. Pode ser utilizado no intuito de estimular o desenvolvimento folicular, induzir a secreção de FSH em éguas em anestro ou que não desenvolvem folículo pré-ovulatório durante a estação de monta, além de possuir função de diminuir a antigenicidade provocada pelo hCG (Hafez, 2004).

Comercialmente existem 3 diferentes tipos de análogos ao GnRH, sendo estes acetatos de busarelina, acetato de deslorelina e acetato de fertirelina, sendo os três eficientes em elevar as taxas de LH e promover a ovulação em éguas cíclicas, a diferença entre os três análogos se dá no tempo de ovulação que cada qual provoca, sendo em média 24 a 48 horas para o acetato de busarelina, 36 a 48 horas para a deslorelina e 12 a 48 horas para o acetato de fertirelina. Dentre os análogos destaca-se a deslorelina, já que esta possui capacidade de reduzir o número de coberturas, bem como o número de visitas do veterinário para realizar o controle folicular, pois possui maior efetividade de ação e também é mais precisa no desempenho da função, torna-se crucial para o auxílio da indução da ovulação nos programas de transferência de embriões e inseminação artificial, especialmente para sêmen refrigerado e congelado (Samper et al., 2002).

2.6 Sincronização entre doadoras e receptoras de embriões

O processo de preparação de éguas receptoras de embriões em centrais de reprodução é a ação que mais demanda tempo e dedicação, já que as fêmeas necessitam de avaliação diária através de palpação transretal e ultrassonografia de ovários e útero (Neto, 2017).

A sincronização entre doadoras e receptoras de embrião é de grande relevância para o estabelecimento da gestação em programas de transferência de embriões. A ausência da sincronia, ou quando esta é realizada de forma incorreta, repercute na mortalidade embrionária, em especial na primeira semana de desenvolvimento embrionário. A utilização de hormônios como progestágenos,

estrógenos, prostaglandina, hCG, GnRH e análogos, tem sido utilizado visando o controle do desenvolvimento folicular e também do tempo de ovulação (Neto, 2017).

É imprescindível que doadoras e receptoras estejam ciclando normalmente para a sincronização do estro e da ovulação (Frazão, 2017). A sincronização entre receptoras e doadoras é uma técnica considerada pouco complexa em éguas cíclicas, previamente sabendo que receptoras e doadoras se apresentam entre o sexto e décimo quarto dias do diestro e o exame ultrassonográfico dos ovários revela a ausência de um grande folículo préovulatório, corriqueiramente é administrado via intramuscular PGF2- α ou análogo na égua doadora, e um a dois dias a frente, a mesma terapia na égua receptora (Neto, 2017). O uso de prostaglandina é um método altamente difundido para sincronia de fêmeas equinas, mas a resposta a esse tipo de agente luteolítico é totalmente dependente da existência de um corpo lúteo responsivo ao mesmo, tendo em vista que o corpo lúteo se torna responsivo a ação da prostaglandina a partir do quinto dia após a ovulação (Frazão, 2017).

São várias as formas de sincronização entre doadoras e receptoras, desde o acompanhamento para identificação da ovulação espontânea, indução da ovulação e a terapia hormonal, sendo importante possuir no mínimo duas éguas receptoras para cada égua doadora (Silva, 2014).

Nas técnicas de sincronização utilizando a indução da ovulação monitorando a dinâmica folicular por ultrassonografia e utiliza-se, hCG ou GnRH para indução da ovulação nas éguas receptoras, 48 h depois que a doadora for inseminada. Salienta-se que sucessivas aplicações de hCG induzem a formação de anticorpos, fator que minimiza a sua eficácia na resposta ovulatória. A janela de sincronização entre doadoras e receptoras consiste naquela em que as receptoras se encontram entre o quarto e oitavo dia de ovulação (em relação a ovulação da doadora – D0), considerando que a coleta do embrião seja no oitavo dia quando se utiliza sêmen a fresco ou resfriado; e a receptora pode ovular no intervalo de um dia antes (D+1) até 3 dias depois (D-3) da doadora, sendo esta considerada apta a ser receptora de embriões neste intervalo (Neto, 2017).

Para o estabelecimento de protocolo hormonal utilizando progesterona na sincronização de éguas receptoras acíclicas, com data do lavado uterino das doadoras de embrião, os protocolos hormonais são baseados primeiramente na administração de estrógeno, no intuito de simular a condição hormonal de estro e estimular a expressão de receptores uterinos para o hormônio P4, semelhante ao que acontece no ciclo estral das éguas cíclicas previamente a ovulação. Decorridas 24h da aplicação de estrógeno é verificada a presença de edema uterino, através de ultrassonografia, e caso este seja satisfatório é administrado P4 ou 19-nortestosterona, que pode ser injetável ou oral. Dessa forma a transferência de embrião é realizada com uma janela de 4 a 8 dias após a aplicação do progestágeno (Aristizábal, 2017).

2.7 Uso de Progesterona em éguas receptoras de embrião

Conforme Aristizábal (2017) a espécie equina de modo similar a outras espécies domésticas, tem a produção total de progesterona durante a gestação devido ao fato de prolongar a funcionalidade do corpo lúteo, apresentando três formas diferentes de P4 para manter a gestação: Corpo Lúteo, Corpos Lúteos Suplementares e a Placenta.

O termo progestágenos se refere a hormônios esteróides naturais como a 'progesterona (P4) ou também os sintéticos como o 19-nortestosterona que

possuem capacidade de se ligarem aos receptores de progesterona exercendo as atribuições da mesma (Aristizábal, 2017). Atualmente existem formulações de 19-nortestosterona injetável e progesterona de curta e longa ação, porém pela maior facilidade e menor manejo dos animais, a P4 longa ação (P4 LA) é mais utilizada (Rocha Filho et al., 2004)

A progesterona possui papel de manutenção gestacional, a produção intensa desse hormônio e de seus subprodutos, como por exemplo a 5 α -dihidroprogesterona (5 α DHP), são necessários para manter um adequado ambiente uterino e proporcionar desenvolvimento embrionário. Após a ovulação e até aproximadamente o dia 40 da gestação, o corpo lúteo é responsável pela síntese de P4. Em éguas prenhes o corpo lúteo tende a persistir por mais de 14 a 16 dias, em decorrência do reconhecimento gestacional, período em que o embrião através da migração uterina sensibiliza o útero evitando a liberação de prostaglandinas (Aristizábal, 2017).

O alantocóron se encontra em período de expansão entre os dias 40 e 120 de gestação, neste período as células do trofoblasto tem capacidade de sintetizar diversos hormônios, destacando-se a progesterona, sendo observados ao redor do dia 70 da gestação. Entre os dias 70 e 150 da gestação a progesterona que se encontra no plasma representa uma mistura de P4 secretada pelos corpos lúteos em processo de declínio e pelos progestágenos da placenta secretados pelo alantocóron em crescimento. Aproximadamente após os 180 dias de gestação não ocorre mais a produção de P4 pelos corpos lúteos da égua e a unidade feto-placentária sintetiza este hormônio até o final da gestação (Allen, 2001).

A perda embrionária precoce tem relação com as baixas concentrações de progesterona sistêmica na gestação precoce. Concentrações abaixo de 2,5 ng/mL no dia 12, foi usado como valor crítico para identificação de éguas com disfunção de síntese de progesterona endógena por meio do corpo lúteo. Experimentos demonstram que éguas ovariectomizadas tratadas com 300 mg/dia de progesterona mantiveram a gestação após a transferência de embrião (Ginther, 1985).

O tratamento de receptoras com progesterona aumenta a proporção de receptoras classificadas como excelentes ou boas no dia da inovulação do embrião, além de ampliar o período útil para inovulação destas receptoras. Os protocolos utilizando P4 além de elevar a taxa de uso de receptoras, também eleva as taxas de embriões confirmados após a inovulação, otimizando os índices reprodutivos (CAIADO, 2012).

Protocolos envolvendo o uso de progesterona em éguas receptoras em anestro ou na fase de transição tem sido descrito por vários autores sendo inúmeras as suas funções, como por exemplo, a melhora no tônus uterino, fator que reduz a contratilidade uterina e impedindo a expulsão do embrião (Tridapali, 2018).

3 Material e Métodos

O experimento foi realizado no município de Unaí-MG entre os meses de dezembro de 2018 à Março de 2019, na propriedade Agropecuária Galiléia, situada na microrregião das Palmeiras as margens do ribeirão Roncador, com altitude aproximada de 565 metros, e clima tropical com estação seca. O período selecionado para a realização do experimento compreendeu a estação de monta 2018/2019 sendo conduzida em meses com maiores incidências de luz solar, compreendendo o período de ciclicidade reprodutiva, já que a espécie equina é poliéstrica sazonal conforme descreve Dittich (2001).

Foram utilizadas no experimento 80 éguas receptoras de embrião, sem raça definida com média de peso de 400 kg, com idade entre 5 á 8 anos, as quais

passaram por prévio exame ultrassonográfico para avaliação do aparelho reprodutivo e aptidão em receber embriões além da realização de profilaxia vacinal contra: raiva, herpes vírus e leptospirose. Em todas as receptoras foram realizados exames para diagnóstico de anemia infecciosa equina e mormo além de vermifugação a base de ivermectina oral e realizado o controle de artrópodes nos animais infestados por meio de fármacos a base de Calmafós e Propoxur. Os animais foram alimentados sob regime de pastagem mista composta por tifton e mombaça em uma área de aproximadamente 50 hectares e suplementados com sal mineral específico para equinos.

No estudo utilizou-se 20 éguas doadoras de embrião, das raças: Manga Larga Marchador, Quarto de Milha, PaintHorse e PSI (Puro Sangue Inglês), com idades média 11 anos e média de peso de 500 kg de peso vivo sendo originárias de vários Haras e criatórios da região.

As éguas receptoras foram divididas em dois grupos experimentais: Grupo Sem (P4) contendo 40 éguas que não receberão tratamento com progesterona, utilizando-se cios naturais e induzindo a ovulação, para serem utilizadas como receptoras de embrião e grupo com (P4) com 40 éguas as quais receberam tratamento. Todas as éguas passaram por exame ultrassonográfico regular e neste foi avaliada a contratilidade e edema uterino assim como a dinâmica folicular.

Éguas pertencente ao Grupo Com (P4) foram avaliadas principalmente quanto ao edema uterino e dinâmica folicular, as quais quando em condições de ausência de cio, ou seja, sem edema uterino e ausência de corpo lúteo receberam aplicação de benzoato de estradiol na dose de 2 mg no primeiro dia e 0,5 mg no segundo dias, sendo estes animais avaliadas diariamente. Casos em que a resposta foi satisfatória quanto a responsividade ao estrógeno, sendo manifesta em aumento do edema uterino, foi administrada primeira dose de progesterona utilizando-se o Altrenogest® (19-nortestosteronas) 300 mg.

As éguas do grupo Sem (P4) foram avaliadas principalmente quanto ao diâmetro folicular e edema uterino, assim como no grupo tratado com progesterona as éguas quando em condições de ausência de cio, ou seja, sem edema uterino e ausência de corpo lúteo receberam aplicação de benzoato de estradiol na dose de 2 mg no primeiro dia e 0,5 mg no segundo dias, sendo estes animais avaliadas diariamente. Casos em que a resposta foi satisfatória quanto a responsividade ao estrógeno as quais quando em condições de um folículo pré-ovulatório, medindo acima de 36 mm e na avaliação uterina apresentaram edema uterino grau II ou III a indução da ovulação foi feita com 0,25 mg/kg de deslorelina análoga do GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina). De 36 a 48 h, tempo citado por Faria (2016), a ovulação foi conferida através do ultrasson para sincronização da receptora com a doadora, assim como no grupo tratado com progesterona as éguas do grupo controle quando em condições de ausência de cio, ou seja, sem edema uterino e ausência de corpo lúteo receberam aplicação de benzoato de estradiol na dose de 2 mg no primeiro dia e 0,5 mg no segundo dia, Casos em que a responsividade ao estrógeno foi confirmada, sendo manifesta em aumento do edema uterino e apresentando folículos dominantes a partir de 36 mm procedeu-se a indução da ovulação.

Os embriões foram recuperados das doadoras inseminadas previamente com sêmen a fresco, resfriado ou congelado, e após 8 dias de ovulação no caso do sêmen resfriado ou a fresco e com 9 dias quando inseminadas com sêmen congelado, as colheitas foram feitas pelo método não cirúrgico por meio de lavado uterino com solução de ringer com lactato, utilizando a técnica de Teske (2017)

através de sondagem transcervical. Após recuperação, os embriões foram lavados com meios holdings próprios para lavagem de embriões (Botuembryo- Botupharma) e posteriormente inovulados nas éguas receptoras previamente sincronizadas grupos Com e Sem (P4). Somente os embriões com classificação de qualidade grau I e II foram utilizados para inovulação neste experimento (CAIADO et al., 2005).

As inovulações foram realizadas em receptoras aptas entre o dia 4 e 8 após a ovulação no caso das receptoras pertencentes ao grupo Sem (P4), e entre 2 e 8 dias após a administração de 19-nortestosterona no grupo Com (P4). Após as inovulações o grupo (P4) recebeu uma dose adicional de 180 mg de 19-nortestosterona e após 13 dias de desenvolvimento embrionário os diagnósticos gestacionais precoces foram realizados, nas éguas com diagnóstico positivo administrou-se a terceira dose de progesterona sendo então usada neste momento a progesterona de longa ação (P4 LA) na dose de 1,500 mg, sendo esta dose repetida a cada 7 dias até os 120 dias de gestação, quando então a placenta passará a produzir progesterona endógena.

No grupo Sem (P4) o diagnóstico gestacional precoce também foi realizado com 13 dias de desenvolvimento embrionário e em casos negativos as receptoras deste grupo receberam 5,0 mg de Dinoprost (Lutalyse) para realização da luteólise.

Para realização do experimento foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (receptora tratada e não tratada com progesterona) e 40 repetições (animais). Os dados foram submetidos à análise de variância, com comparação das médias através do Teste de Tukey a 5 % de probabilidade, por intermédio do programa estatístico (SISVAR).

4 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Para avaliação da ecotextura uterina, diagnóstico gestacional aos 13 dias e aos 40 dias de gestação houve efeito significativo dos tratamentos em todos os parâmetros avaliados, ao nível de 5% de significância do teste de Tukey (Tabela 1).

Tabela 1. Grau de Edema Uterino no momento da inovulação (GEUI), Diagnóstico de Gestação com 13 Dias (DG13) e Diagnóstico de Gestação com 40 Dias (DG40) das éguas em função dos tratamentos.

Tratamentos	(GEUI)	(DG13)	(DG40)
Sem progesterona	0,25 b	0,55 b	0,55 b
Com progesterona	0,65 a	0,85 a	0,85 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores do trabalho, 2019.

Conforme pressuposto o tratamento com o uso de progesterona apresentou resultados positivos relacionados a taxa de concepção dos animais tratados com (P4) em relação aos animais do grupo controle, de forma que no grupo com (P4) a taxa de gestação foi de (85%) aos dias 13 e 40 de gestação. Em contrapartida éguas não tratadas apresentaram um índice gestacional de (55%) aos 13 e aos 40 dias de desenvolvimento embrionário na segunda avaliação.

Em relação ao parâmetro grau de edema uterino no momento da inovulação avaliado no experimento os grupos apresentaram significativa discrepância para tal variável, de forma que as éguas do grupo controle nas quais foi realizado o protocolo de indução da ovulação, obtiveram média de edema uterino de (0,25), já

o grupo testado com progesterona apresentaram um valor médio de edema uterino de (0,65).

Silva et al. (2012), utilizaram 64 receptoras cíclicas, ovuladas e classificadas como excelentes foram tratadas com 1500 mg de progesterona longa ação no dia da ovulação, sendo estas inovuladas no segundo dia pós ovulação e obtiveram 71% de prenhez. Resultados parecidos foram encontrados por Bartolomeu (2014), quando tratou 17 éguas acíclicas com 2000 mg de progesterona longa ação com previa aplicação de 10 mg de benzoato de estradiol 48 horas antecedentes a administração de progesterona, sendo inovuladas entre o quarto e oitavo dia do tratamento em que estas apresentaram 76% de prenhez, taxas próximas das encontrados neste estudo.

Em um estudo Aristizábal (2014), sugere que o uso do hormônio 19-nortestosterona consegue manter as concentrações plasmáticas de progesterona da fase luteal a um nível de (3,41 á 3,33 ng/dl) padrão encontrado em éguas gestantes sem fontes endógenas de progesterona, no mesmo estudo o autor avaliou a taxa de gestação aos 15 dias em um estudo com 81 éguas acíclicas tratadas com 19-nortestosterona e um grupo controle com 74 éguas cíclicas, obtendo resultado de 46% e 59% de gestação respectivamente, não obtendo diferença estatística entre os grupos, possivelmente a menor taxa gestação no grupo 19-nortestosterona pode ter sido influenciada por se tratar de éguas acíclicas.

Taxas de gestação inferiores, quando comparados com as que presente trabalho, são relatadas por Tridapali (2018), quando por meio de um experimento com 37 receptoras utilizando aplicação de progesterona longa ação sendo estas inovuladas entre o segundo e sétimo dia após o tratamento obteve concepção de 56%, no mesmo estudo utilizando-se progesterona em receptoras, porém ovuladas e com corpo lúteo pequeno e incapaz de produzir progesterona suficiente para manter um gestação e inovuladas entre o segundo e sétimo dia pós ovulação demonstraram concepção de 61%. Índices considerados elevados quando comparados ao grupo controle do mesmo trabalho sem o uso de progesterona em que este grupo apresentou 31% de concepção.

Adicionalmente, Júnior (2017) relata que protocolos envolvendo o uso de estrógeno e posteriores aplicações de progesterona de curta ou de longa ação ou o uso de 19-nortestosterona nas éguas receptoras acíclicas, apresentam resultados satisfatórios no programas de transferência de embriões, aumentando o número de receptoras aptas para a inovulação e elevando os incides de concepção.

Segundo Rocha e Filho et al. (2004) demonstram que o uso de progesterona de curta ou longa ação, em estudos com éguas receptoras de embriões cíclicas e acíclicas, não apresentaram diferença estatística. Dessa forma afirmando que o uso inicial do hormônio 19-nortestosterona com posteriores aplicações de progesterona longa ação não interferem nas taxas de gestação.

A progesterona apresenta papel fundamental no que diz respeito a manutenção embrionária (Monteiro, 2016) estudos realizados por Hinrichs et al. (1987) o qual utilizou receptoras ovariectomizadas tratadas com 300 mg de progesterona longa ação oleosa diariamente por 20 dias, seguindo o tratamento por 100 dias de gestação demonstrou que estas éguas foram capazes de manter a gestação mesmo sem a presença dos ovários e ainda demonstra no trabalho que os níveis plasmáticos de progesterona das éguas tratadas com progesterona foram similares aos do grupo controle.

Partindo-se da justificativa de que a progesterona longa ação, quando comparada a progesterona de curta ação; 19-nortestosterona, possui período

prolongado de atividade a nível reprodutivo, por se manter em concentrações plasmáticas elevadas em um maior período, repercutindo com a demanda de um maior tempo para retorno ao estro (SILVA, 2015), culminando com a elevação do período de espera para reutilização destas receptoras, caso reabsorvam o embrião inovulado. Dessa forma no protocolo adotado com uso de progesterona de longa ação foi conduzido com prévio uso de 19-nortestosterona, e diagnóstico gestacional positivo aos 13 dias de gestação.

O prévio uso de benzoato de estradiol em determinadas receptoras com grau insatisfatório de edema uterino realizado no experimento se justifica pela necessidade da manutenção temporária de uma elevada concentração plasmática de estrógeno (Allen, 2001), sendo esta concentração de estrógeno manifesta pelo aparecimento de edema uterino característico de forma que o estrógeno circulante estimule a expressão de receptores de progesterona e preparando o endométrio para levar a termo a gestação (Hughes et al., 1977).

Com relação a avaliação do tônus uterino o grupo tratado com progesterona apresentou maior grau de edema uterino em relação ao grupo controle. Fontes et al. (2007) apresenta um estudo no qual pouco mais de 25% das receptoras tratadas com progesterona apresentaram baixo grau de edema uterino, enquanto as que pertenciam ao grupo controle sem uso de P4 mais de 71% apresentaram baixo grau de edema uterino, ambos os grupos avaliados no segundo dia após a ovulação. Com base nos resultados apresentados sugere-se que o menor grau de edema uterino apresentado pelos animais do grupo controle deste experimento se deva ao fato de que estas receptoras se encontravam fisiologicamente no diestro, fase que precede a ovulação, por esta razão os níveis de estrógeno já apresentavam início dedeclínio em torno de dois dias antes da ovulação, apresentando baixas concentrações no dia da inovulação, culminando com baixos graus de edema uterino (Mckinnon & Carnevale, 1993).

5. Conclusão

Dessa forma o uso de progesterona em éguas receptoras de embriões se mostra como uma alternativa efetiva por elevar as taxas de concepção já que o tratamento com este hormônio possibilita manter uma constante concentração plasmática controlada do hormônio, preparando o ambiente uterino para manutenção gestacional e aumentando a disponibilidade de receptoras aptas a inovulação em um programa de transferência de embriões.

6. Referências

Anualpec. (2017). *Anuário da Pecuária Brasileira*, 20th edn. Instituto FNP, São Paulo, SP, Brasil.

Allen, W. R. (2005). Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare. *Animal of Reproduction*, 2(4).

Julia da Silva, E., Rodrigues de Paula Junior, A., Caroline Primo da Silva, A., Souza Kung, E., Clício Maia Filho, R., & Coutinho Bartolomeu, C. (2014). Associação de benzoato de estradiol e progesterona na preparação de éguas acíclicas como receptoras. *Ciência Veterinária Nos Trópicos*, 17(3), 21–21.

Bluman, S. (2017). *The horse industry by the numbers*. 2017. Ride With Equo.

Caiado, J. R. C., Fonseca, F. A., Silva, J. F. S., Fontes, R. da S., & Caiado, J. C. C. (2005). Aplicação do flunixin meglumine antes da transferência não-cirúrgica de embriões em éguas da raça Mangalarga Marchador. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 12(1-3).

Caiado, J. R. C., Fonseca, F. A., Silva, J. F. S., & Fontes, R. da S. (2007). Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(2), 360–368. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982007000200012>

CNA. (2006). *Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil*. Estudo do complexo do agronegócio cavalo. CEPEA/ESALQ/USP, p.1-17, Piracicaba.

CNA. (2010). *Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil*. Estudo do complexo do agronegócio cavalo. CEPEA/ESALQ/USP, p.1-17, Piracicaba.

Dias, D. (2016). *Cavalos movimentam R\$16 bi por ano*. Saiba como você pode lucrar. Canal Rural.

Dittrich, J.R. (2001). *Relações entre a estrutura das pastagens e a seletividade de eqüinos em pastejo*. 2010. 77f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná.

Diniz, F. H. (2011). *A ultrassonografia na avaliação da dinâmica folicular e textura uterina em éguas utilizadas em programas de inseminação artificial*. UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, CAMPUS DE PATOS – PB.

Faria, D.R & Gradela A. (2010). Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. *Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte*, 34(2).

Farias, L. D., et al., (2016). Indução da ovulação em éguas: uma revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte*, 40(1).

Fao, F.A.O. (2009). *Estatísticas de Animais Vivos 2009. Caderno de estatísticas do agronegócio brasileiro*. Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura – IICA, Brasília.

Fleury, J.J. (1991). O dia da colheita na taxa de recuperação de embriões em eqüinos em uma central de transferência de embriões comercial. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 26.

Frazão R.C.R.A, (2017). *Ciclo Estral e Hormonioterapia Aplicada à Reprodução de Eqüinos: revisão de literatura 2017*. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) Centro Universitário de Formiga - UNIFOR MG.

Grandela A. et al. (2010). Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. *Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte*, 34(2).

Ginther, O. J. (1985). Embryonic loss in mares: Incidence, time of occurrence and hormonal involvement. *Theriogenology*, 23.

Hinrichs, K., Sertich, P. L., Palmer, E., & Kenney, R. M. (1987). Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progesterone. *Reproduction*, 80(2), 395–401.

Ley, W.B., (2013). *Reprodução em Éguas para Veterinários de Equinos*. – São Paulo, Roca.

Mapa. (2016). *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. 2016. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-> [acesso em: Nov 18 2018].

Rodrigues, T. G., Caiado, J. R. C., Fagundes, B., & Straggiotti, J. F. S. (2012). Uso de progesterona de longa ação e inovulação de éguas no segundo dia após a ovulação. *Acta Biomedica Brasiliensia*, 3(1), 14–26.

Silva, F.S. et.al. (2012). *Uso de progesterona de longa ação e inovulação de éguas no segundo dia após evulação*. Biomedicina Brasileira.

Teske J., Transferência de Embriões em Equinos., 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Rurais Veterinária

Vallejo Aristizábal, V. H., Mogollón García, H. D., Monteiro da Silva, E. S., Antônio Dell'Aqua Junior, J., Vallejo Aristizábal, V. H., Mogollón García, H. D., Monteiro da Silva, E. S., & Antônio Dell'Aqua Junior, J. (2017). Transferência de embriões em éguas receptoras anovulatórias. *Revista de Medicina Veterinaria*, 33, 137–147. <https://doi.org/10.19052/mv.4061>