

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Transferência de embriões em equinos  
(Revisão)

Artur George Pereira Ferreira da Silva  
Graduando

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Transferência de embriões em equinos

Artur George Pereira Ferreira da Silva  
Graduando

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro  
Orientador

Patos – PB  
Maio de 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

S586t Silva, Artur George Pereira Ferreira da  
Transferência de embriões em equinos / Artur George Pereira Ferreira da Silva. – Patos, 2014.  
39 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) -  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro”.

Referências.

1. Reprodução animal. 2. Equinos. I. Título.

CDU 636.082.4:636.1

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ARTUR GEORGE PEREIRA FERREIRA DA SILVA  
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADO EM ...../...../..... MÉDIA: \_\_\_\_\_

EXAMINADORES:

_____ Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro	_____ Nota
_____ Prof. Dr. Sérgio Ricardo Araújo de Melo e Silva	_____ Nota
_____ Med. Vet. Vera Lúcia de Lima Torres	_____ Nota

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, João e Marli, por sempre me incentivarem nessa jornada, e  
À minha esposa, Patrícia, e minha filha, Maria Alice, pelo amor de vocês a mim  
dispensado e por estarem sempre ao meu lado independente do que seja.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todas as oportunidades e por ter me guiado sempre com retidão.

Aos meus pais, João e Marli, que sempre fizeram tudo que foi possível para que esse momento se realizasse.

À minha esposa, Patrícia pela compreensão e por dividir momentos difíceis e maravilhosos com sabedoria.

A minha filha linda, que é a razão da minha vida.

Ao meu irmão, João Paulo, minha irmã, Luciana, e cunhados Hertz, Lela, Talitha e Davi pelo apoio e incentivo.

À todos os meus familiares que de alguma forma sempre estiveram torcendo por mim.

A todos os amigos de turma, principalmente a Arthur Vagner, que sempre foi companheiro e a Equipe Souza Folia (cumpade Gió, Borel e Alison) que dividiram momentos inesquecíveis.

À todos os professores que contribuíram de alguma forma para a minha formação profissional, em especial Professor Carlos Peña, meu orientador e amigo, e Professora Norma, que admiro demais e sempre que pode me deu oportunidades.

A todos os funcionários, em especial Verinha e Tereza, que sempre foram muito prestativas e amigas.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT .....	12
1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1 HISTÓRICO .....	12
2.2 SELEÇÃO E MANEJO DE DOADORAS.....	13
2.3 SELEÇÃO E MANEJO DE RECEPTORA.....	15
2.4 SINCRONIZAÇÃO E OVULAÇÃO .....	18
2.5 COLHEITA DOS EMBRIÕES.....	22
2.6 CLASSIFICAÇÃO E MANIPULAÇÃO .....	26
2.7 INOVULAÇÃO.....	28
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	30
4 REFERÊNCIAS.....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>PBS</b>	.....	Solução salina fosfatada tamponada
<b>SFB</b>	.....	Soro fetal bovino
<b>TE</b>	.....	Transferência de embrião
<b>CL</b>	.....	Corpo lúteo
<b>Efsh</b>	.....	Hormônio folículo estimulante eqüino
<b>GnRH</b>	.....	Hormônio liberador de gonadotrofina
<b>Hcg</b>	.....	Gonadotrofina coriônica humana
<b>PGF2<math>\alpha</math></b>	.....	Prostaglandina F2alfa
<b>E2</b>	.....	Estrógeno
<b>P4</b>	.....	Progesterona
<b>P4 LA</b>	.....	Progesterona de longa ação
<b>EPE</b>	.....	Extrato de pituitária eqüina
<b>CNA</b>	.....	Confederação Nacional da Agricultura

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Lavagem uterina.....	25
Figura 2 – Colheita de embrião.....	26
Figura 3 – Manipulação de embrião.....	28
Figura 4 – Inovulação de embrião.....	30

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Tabela de classificação dos embriões quanto à qualidade.....	28
---	----

## RESUMO

SILVA, ARTUR GEORGE PEREIRA FERREIRA DA. Transferência de embriões em equinos. Patos, UFCG. 2014. 40 p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

A transferência de embriões é hoje considerada uma das principais biotecnologias reprodutivas aplicada aos equinos. Para a realização dos procedimentos envolvidos nesta biotécnica é importante obter conhecimentos morfofisiológicos da reprodução em éguas que envolve o comportamento sexual, dinâmica folicular, modificações de textura uterina e uso de hormônios exógenos para manipular qualquer destes eventos. O presente trabalho busca apresentar uma revisão sobre a biotecnologia da transferência de embriões em eqüinos.

**Palavras-chave:** reprodução, eqüino, transferência de embriões, égua.

## **ABSTRACT**

SILVA, ARTUR GEORGE PEREIRA FERREIRA DA. Embryo transfer in horses. Patos, UFCG. 2014. 40 p. (Monograph of the Course of Veterinary Medicine).

Embryo transfer is now considered one of the main reproductive biotechnologies applied to horses. For carrying out the procedures involved in biotech's important to get Morphophysiological knowledge of reproduction in mares involves, follicular dynamics, changes in uterine texture and use of exogenous hormones sexual behavior to handle any of these events. This study aims to present a review of biotechnology embryo transfer in horses.

**Keywords:** reproduction, equine, embryo transfer, mare.

## 1 INTRODUÇÃO

A relação do homem com os equinos tem sido muito estreita ao longo do tempo. Os equinos estiveram presentes em diversas conquistas e guerras. Nas últimas décadas perderam seu espaço no campo, devido à mecanização, onde serviram por muito tempo como animais de tração e transporte e hoje o seu uso está mais ligado ao lazer e esportes.

Atualmente a equideocultura exerce um importante papel na economia mundial como fonte geradora de emprego e renda. Onde no Brasil, o segmento vive um momento de constante crescimento. De acordo com estudos do Centro de Estudos Econômicos da Universidade de São Paulo (Cepea), o movimento anual do setor gira em torno de R\$ 8,5 bilhões, além de proporcionar mais de três milhões de empregos diretos e indiretos (CNA, 2010).

Com o mercado equestre bastante aquecido, cresce a procura por animais de genética superior e com bom desempenho em provas esportivas. É aí onde entram as técnicas de reprodução assistida, que tem papel fundamental nos criatórios, otimizando as produções e contribuindo com o melhoramento genético animal.

Dentre as técnicas de reprodução assistida em eqüinos, a Transferência de Embriões 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 receptora.

Objetiva-se com o presente trabalho apresentar uma revisão de literatura abordando aspectos relacionados à aplicação da transferência de embrião na espécie equina.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO

A primeira transferência de embriões (TE) descrita em mamíferos foi realizada em 1890, pelo cientista Walter Heape, na Universidade de Cambridge, Inglaterra, (GONSALVES et al., 2002).

Em 1929, Gregory Pincus e colaboradores com sucesso obtiveram o primeiro produto de transferência de embriões, em coelha (ANDRADE, 1986).

Em 1969, 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 sucesso nas colheitas dos embriões, porém sem nenhuma concepção confirmada (OGURI e TSUTSUMI, 1972).

Dois anos depois, os mesmos pesquisadores, obtiveram um percentual de concepção de 40% dos embriões transferidos, seguindo a mesma linha de pesquisa, onde em 20 éguas, coletaram 18 embriões, e transferiram 15 destes pelo método não-cirúrgico transcervical, para éguas receptoras em sincronismo de -5 a +7 dias, em relação às éguas doadoras (OGURI e TSUTSUMI, 1974).

As primeiras transferências de embriões em equinos bem sucedidas datam dos anos 70. Allen e Rowson (1972), em Cambridge, Inglaterra, realizaram a primeira transferência entre burros e cavalos, onde os embriões eram coletados e transferidos por cirurgia via laparotomia, pelo flanco ou linha média (ALLEN, 2005).

Os primeiros potros nascidos de TE foram no Japão em 1973, e em Cambridge, Inglaterra em 1975, frutos dos trabalhos de Oguri e de Allen e Rowson, respectivamente (GORDON, 2008).

Oguri e Tsutsumi (1980), no Japão, realizaram a técnica de transferência não cirúrgica em éguas pela primeira. Desde então a técnica começou a ser difundida em diversos países, sendo considerada uma das biotécnicas mais utilizadas na reprodução assistida de equinos.

No Brasil, em 1987, a biotécnica teve seu início na espécie eqüina, onde os grandes responsáveis foram o Médico Veterinário João Junqueira Fleury, e Cezinande Meira e Marc Henry, através dos métodos cirúrgico e não-cirúrgico, respectivamente (FLEURY et al., 1987; MEIRA e HENRY, 1991).

Houve grandes avanços no que se refere à biotecnologia da TE na espécie equina, melhorando consideravelmente as taxas de prenhez de 12,5% à 74,55% (VOGELSANG et al., 1979; OGURI e TSUTSUMI, 1980; FLEURY e ALVARENGA, 1999; PERES et al., 2002; ROCHA FILHO et al., 2004).

Os pesquisadores Farinasso et al. (1989) e Meira e Henry (1991), encontraram, no Brasil, taxas de recuperação embrionária e de prenhez com variação de 48,3% a 83,3% e 45,5% a 80,0%, respectivamente.

## 2.2 SELEÇÃO E MANEJO DE DOADORAS

Sem dúvida, o fator mais importante que afeta as taxas de prenhez de TE é o manejo das doadoras e receptoras de embriões (SQUIRES, 2003).

Na seleção da égua doadora devem ser considerados alguns fatores, dos quais podemos destacar a sua história reprodutiva, a fertilidade, as diretrizes do registro da raça, o valor genético, o número de gestações desejadas (SQUIRES et al., 1999), idade, conformação da vulva e condição uterina (SQUIRES E SEIDEL, 1995).

O procedimento de TE exige um investimento elevado, sendo considerado caro, por isso sua utilização é normalmente restrita a éguas de qualidade superior, com características que se acredita serem altamente herdáveis (RIERA, 2009).

Todas as éguas devem apresentar exame negativo de Anemia Infecciosa Equina, para poderem ser admitidas na Central de Reprodução. O estado geral de saúde do animal é importante, por isso, ao chegarem, devem passar por um exame físico geral, recebendo vermífugos e vacinas necessárias. Se houver um histórico reprodutivo, este deve ser cuidadosamente revisado, buscando características gerais e do ciclo estral, pois a maioria desses achados se repete

ano após ano. Uma avaliação reprodutiva também deverá ser realizada em cada égua que entra no programa de TE (RIERA, 2009).

Caso não haja histórico reprodutivo da doadora, deve-se realizar um exame reprodutivo completo da égua, sendo ideal a avaliação de um ou de dois ciclos estrais de cada doadora antes da sua utilização no programa (RIERA, 2009). Identificando-se anormalidades reprodutivas, caso necessitem de tratamento, deverão ser tratada antes de entrar para o programa de TE (VANDERWALL, 2000).

Em um programa de TE, as éguas idosas podem ser em grande número, quando doadoras de embrião. Isso se deve, principalmente, por estes animais já apresentarem progênie comprovada ou terem obtido bons resultados na carreira esportiva (ALONSO et al., 2005).

Porém, para Losinno e Alvarenga (2006), esta presença em grande número de doadoras idosas, pode ser um problema, pois estas tem uma eficiência reprodutiva mais baixa quando comparadas à éguas jovens. São observadas normalmente alterações na ovulação e maturação dos oócitos e/ou endometrite crônica. Todos estes aspetos devem ser considerados, de forma a encontrar estratégias que aumentem a colheita embrionária nestas éguas, como cuidados em relação ao bem estar, nutrição diferenciada, evitando estresse ambiental e social, além de que deveriam permanecer em piquetes próximos às centrais, evitando maiores deslocamentos (ALVARENGA, 2010).

Dadoras com história de estabelecerem gestações e depois sofrerem aborto são melhores candidatas a TE do que éguas com história de retornarem repetidamente ao cio após a inseminação, normalmente por apresentarem endometrite crônica degenerativa, o que dificulta a manutenção e desenvolvimento embrionário adequado, culminando em perda embrionária, porem apresentando boa fertilidade (MCKINNON e SQUIRES, 2007; MEIRA, 2007), uma vez que nestas últimas o oócito pode não chegar a ser fertilizado, podem existir alterações no transporte dos gametas ou a taxa de morte embrionária pode ser bastante alta (MCKINNON e SQUIRES, 2007).

O manejo consiste em monitorar o comportamento reprodutivo, emprego da palpação transretal e ultrassonografia para monitorar a atividade folicular, e ovulação, e o uso de hormônios exógenos para sincronizar o estro e ovulação.

Quando em cio, a égua doadora é examinada diariamente para monitorar o crescimento folicular, permitindo o ótimo momento para inseminação com sêmen fresco, refrigerado ou congelado (VANDERWALL e WOODS, 2007).

### 2.3 SELEÇÃO E MANEJO DE RECEPTORA

Para Carnevale et al. (2000), o sucesso em um programa comercial de TE depende da identificação dos fatores que afetam a gestação e a morte embrionária. Portanto, é de suma importância a escolha e o manejo das receptoras (SQUIRES et al., 1999; CARNEVALE et al., 2000), já que estas irão reconhecer o embrião e terão que fornecer as condições necessárias ao seu desenvolvimento (FLEURY et al., 2007).

Estes dois fatores determinarão, em grande parte, o êxito da técnica. A seleção da receptora deve ser criteriosa, responsável e, sobretudo, deve visar à eficiência do programa de TE com o menor custo (ALONSO, 2008).

O risco de comprometimento da tropa com doenças contagiosas pode ser evitado caso a seleção e manutenção de receptoras seja realizada previamente e não haja introdução de novos animais após o início das atividades reprodutivas, atividades estas que exigem muito trabalho (HARTMAN, 2011).

As receptoras devem ser escolhidas, desde que estas sejam saudáveis reprodutivamente, sem alterações músculo esqueléticas, boa saúde dentária e visão, boa qualidade de úbere e bom comportamento (HARTMAN, 2011).

Segundo McCue et al. (1999) e Stout (2006), o critério de inclusão ou rejeição de éguas em um programa de TE para receptoras de embrião geralmente são baseadas na idade, histórico reprodutivo, conformação perineal e avaliação reprodutiva. A palpação, a ultrassonografia, a cultura, a citologia e a biópsia uterina são exames que devem ser incluídos para que a avaliação seja bem realizada.

Alvarenga (2010) cita que o aumento do interesse pelo uso de TE em equinos levou a um aumento do preço e uma redução da oferta de receptoras. Tornando-se difícil achar éguas para servir de receptoras com esse padrão, sendo a realidade destas, bem diferente do padrão ideal.

Para Squires e Seidel (1995) e Squires et al. (1999), a receptora ideal deve ter tipo e tamanho semelhante ao da doadora e ter boa habilidade materna. O aumento ou diminuição do crescimento fetal poderá ser resultado de um porte materno inadequado (ALLEN et al., 2002), assim como a função cardiovascular, endócrina e metabólica pós-natal, poderão ser afetados em função de um crescimento uterino aumentado ou retardado (FORTUNE, 1994). Outro fator importante relacionado ao tamanho da égua receptora é a ocorrência de partos distócicos (TONIOLLO e VICENTE, 1993).

As éguas de raças pesadas são preferencialmente escolhidas como receptoras de embrião devido a uma melhor função da suas glândulas mamárias, conferindo uma alta produção de leite quando comparadas a éguas de raças leves (SANTOS et al., 2005).

A produção leiteira de éguas da raça Bretão, atinge 17,7kg de leite/dia, no pico de lactação, por volta da oitava semana, já as éguas PSI produzem aproximadamente 14,9kg de leite/dia, no mesmo período. Ou seja, as éguas Bretão produzem quase 3,0 kg de leite/dia a mais do que as éguas PSI, demonstrando porque são preferidas para servirem como receptoras de embrião (CABRERA et al., 1990).

Squires e Seidel (1995) e Squires et al. (1999) indica a seleção de receptoras que tenham histórico de parição anterior, com idade entre 3-10 anos, pesando entre 350-450 kg e que sejam dóceis. Losinno e Alvarenga (2006) concordam com Squires e Seidel (1995) e Squires et al. (1999) quando relatam que quanto mais velha a égua receptora, menos estações reprodutivas poderá estar no programa de TE, sendo menos produtiva e seu custo inicial menos amortizável, indicando a utilização de éguas jovens e de meia-idade.

Para Squires et al. (1999); Squires (2003); RIERA (2009), em relação ao peso, preconiza-se uma égua com média entre 400 e 550 Kg. Sendo, preferencialmente, sendo indicada a combinação do tamanho da receptora com o da doadora.

Éguas virgens ou jovens, que já tenham tido um ou dois potros, são normalmente preferidas como receptoras (MCKINNON e SQUIRES, 2007), já que a idade avançada é um fator predisponente para a degeneração do endométrio, que pode comprometer a manutenção de uma gestação (RICKETTS e ALONSO, 1991; MORRIS e ALLEN et al., 2002). Entretanto, Losinno e Alvarenga (2006) discordam desta afirmação, quando relatam que potrancas (2-4 anos), apresentam ciclos estrais erráticos mais frequentes que as adultas, e, muitas vezes, são mais agitadas para o manejo intensivo de exames retais, dificultando assim o trabalho do técnico.

Carnevale e Ginther (1992) afirmam que éguas acima de 15 anos de idade podem ter sua fertilidade reduzida, decrescendo cada vez mais à medida que a idade avança. Alterações degenerativas do endométrio como endometrites, endometrioses e alterações vasculares podem atrapalhar a atividade de hormônios circulantes, modificando o aporte celular da luz uterina e comprometendo a drenagem linfática (SCHOON et al., 1997).

O posicionamento do útero em relação à pelve é um fator desfavorável em éguas de idade mais avançada, pois este projeta-se para um nível mais baixo da cavidade abdominal, resultando em uma maior angulação, dificultando uma drenagem eficiente do líquido uterino (LEBLANC et al., 1998). Deficiência na coaptação da vulva é outro defeito que estas éguas também podem apresentar (TROEDSSON, 1997). Esta escolha, em relação à idade, varia muito entre os centros de reprodução, sendo que vários deles escolhem especificamente éguas que tenham parido anteriormente, pela habilidade materna (ALONSO, 2008).

Outro importante aspecto a ser levado em consideração é a possibilidade de manejo da égua, podendo ser, no mínimo, bem cabresteadas (MCKINNON e SQUIRES, 2007; RIERA, 2009; HARTMAN, 2011), pois um animal agitado, não manejável, representa um risco para os profissionais, para ela própria e para o

embrião, assim como dificultando o manejo com o potro e a realização de controle ultrassonográfico (ALONSO, 2008; LOSINNO e ALVARENGA, 2006).

Para manter a sanidade geral da tropa de receptoras, deve-se realizar um planejamento para controle e prevenção de doenças com o intuito de eliminar qualquer doença que afete negativamente a concepção, gestação e desenvolvimento de potros. As éguas devem ser mantidas em ambiente onde possam estar expostas a agentes infecciosos para que adquiram imunidade, não permitindo que qualquer destes agentes possam vir a prejudicar o feto e causar aborto, assim como realizar um programa de vacinação das principais doenças que atingem a região e causam aborto. Caso não haja um programa de vacinação estabelecido, estas vacinas devem ser realizadas pelo menos um mês antes da data prevista para o parto a fim de que possam ser capazes de gerar anticorpos de transferência colostrálica para os potros (WILSON, 2011).

Para as éguas que são mantidas longe, estas devem ser levadas ao local da parição pelo menos um mês antes do parto para que anticorpos úteis para o potro recém-nascido sejam produzidos a partir de antígenos encontrados no ambiente (WILSON, 2011).

Todos os animais que vierem a ser introduzidos na tropa devem apresentar atestado negativo para anemia infecciosa equina e também para o mormo (LYLE, 2000).

Os parasitas também constituem uma grande ameaça à saúde das éguas gestantes. Portanto, o controle parasitário é um fator importante durante a gestação, estando relacionado não só com a condição geral da égua, mas também com o estado do potro ao nascer (LYONS, 2011).

#### 2.4 SINCRONIZAÇÃO E OVULAÇÃO

Entre os animais de grande porte, a espécie eqüina talvez seja a menos rigorosa em suas exigências para sincronização da ovulação entre doadora e receptora no momento da TE, para que alcance altas taxas de prenhez (ALLEN, 2005).

As doadoras e receptoras podem ser sincronizadas por diversos métodos, são eles: ovulação espontânea, indução da ovulação e terapia hormonal de receptoras que não estão ovulando. Entretanto, a utilização de éguas naturalmente sincronizadas requer um número elevado de receptoras para cada doadora (ZERLOTTI, 2012).

Quando existe um grande número de receptoras, uma doadora pode ser combinada com uma receptora que tenha ovulado espontaneamente, sem recorrer à utilização de hormônios para sincronizar os seus ciclos. No entanto, quando tal não é possível, a sincronização tem que ser feita recorrendo a hormônioterapia, uma vez que é aconselhável ter pelo menos duas receptoras para cada doadora (MCKONNON e SQUIRES, 2007).

As doadoras e receptoras, podem ser sincronizadas, quanto aos estros e ovulações, desde que as éguas estejam ciclando regularmente. A administração da prostaglandina é uma prática muito comum na sincronização do cio em éguas, porém a resposta a este agente luteolítico depende da presença de corpo lúteo (CL) funcional (LOY et al., 1979).

Na reprodução, alguns hormônios podem ser utilizados, dentre eles a Prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), Estrógenos (E<sub>2</sub>), Progestágenos (como a progesterona – P<sub>4</sub>), Gonadotrofina Coriônica Humana (HCG), Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH – acetato de deslorelina), Extrato de Pituitária Equina (EPE), Hormônio Folículo Estimulante Equina (eFSH) e Ocitocina (FARIA e GRADELA, 2010).

Como prática para sincronização da ovulação na égua, dentre diversas existentes, o uso de análogos da prostaglandina associados à aplicação de hCG ou GnRH é o protocolo mais utilizado (MEIRA; 2007).

Em éguas cíclicas, a sincronização entre doadora e receptora é uma técnica realizada de maneira relativamente simples. Administra-se, pela via intramuscular, uma única dose de PGF<sub>2α</sub> ou de um análogo na doadora. Nos dois dias seguintes realiza-se o mesmo procedimento para as receptoras. Desta forma espera-se que as receptoras ovulem depois das doadoras (LIRA et al., 2009). A

administração da PF2 $\alpha$  tem como objetivo eliminar o corpo lúteo, para que chegue ao fim da fase lútea, fazendo com que a égua retorne ao estro. No entanto, este tratamento somente terá eficiências se estiver um CL maduro presente, pois só após o quinto dia pós-ovulação o CL torna-se responsivo à prostaglandina. Após a administração da prostaglandina, a égua demora, em média, cinco a sete dias para retornar ao cio e 9 a 10 dias até ovular (BRADECAMP, 2007).

Nos casos em que haja um folículo dominante em crescimento e dependendo do diâmetro desse folículo, a ovulação pode ocorrer em intervalos menores pós-aplicação da prostaglandina (MEIRA, 2007).

Utilizando-se do mesmo tratamento citado acima, quando um folículo de 35mm de diâmetro for detectado, este pode ser associado a administração de hCG ou de GnRH, objetivando-se um melhor índice de sincronização das ovulações entre doadoras e receptoras. No entanto, alguns autores admitem que aplicações sucessivas de hCG induz uma resposta imunológica, iniciando formação de anticorpos, que resulta na redução da resposta ovulatória (BRADECAMP, 2007; SQUIRES, 2008; FARIA e GRADELA, 2010; DUCHAMP et al., 1987).

Outros protocolo que pode ser utilizado é à base de P4 (de curta duração ou oral) associado à estrógeno (17- $\beta$  Estradiol), administrados diariamente, na doadora e receptoras, por um período de 10 dias. Completado esse período, realiza-se uma aplicação de PF2 $\alpha$  ou análogo. Aproximadamente 3 dias após a aplicação da PGF2 $\alpha$ , as éguas exibirão estro. Assim que um folículo de 35 mm de diâmetro ou mais, for detectado pode realizar a indução da ovulação aplicando-se hCG ou GnRH (BRADECAMP, 2007; SQUIRES, 2008; FARIA e GRADELA, 2010). Lembrando que o tratamento da doadora deve começar um a dois dias antes do que nas receptoras (LIRA et al., 2009).

Éguas em anestro também podem participar de um programa de TE, como receptoras, recorrendo à utilização de progestágenos (FARIA E GRADELA, 2010). Foi o que demonstrou Rocha Filho et al. (2004) e Testa et al. (2005), que utilizaram protocolo na qual éguas em anestro eram tratadas por 3 dias ininterruptos com estrógeno, para que simulasse a condição hormonal de estro,

provocando o aparecimento de dobras endometriais (edema) e estimulando a expressão de receptores para progesterona. Em seguida, durante 4 a 8 dias antes da égua receber o embrião administrava-se P4 injetável (progesterona natural oleosa), para que no momento da transferência a concentração plasmática de progesterona estivesse em níveis adequados, viabilizando assim a gestação na receptora. (ROCHA FILHO et al., 2004; SILVA et al., 2011). Sendo o tratamento mantido com progesterona de longa ação progesterona de longa duração (P4 LA), com aplicações repetidas a cada 7 dias até atingir 120 dias de gestação da receptora (LOSINNO E ALVARENGA, 2006), quando a unidade feto-placentária assume a manutenção de gestação, através da própria produção de progestágenos (VANDERWALL E NEWCOMBE, 2007).

A interação entre embrião e ambiente uterino deve ser de completa sintonia, fato que é essencial para o haja o estabelecimento da gestação. A progesterona tem o poder de alterar marcadamente o ambiente uterino, onde um embrião pode encontrar um local desfavorável, em um útero não sincronizado, na qual não corresponde à fase na qual ele se encontra. Essa falta de sincronia pode também impedir o embrião de transmitir o sinal para o reconhecimento materno e, com isso, não suprimir a resposta luteolítica cíclica da égua (WILSHER et al., 2005).

Geralmente, a janela de sincronização aceita entre doadoras e receptoras é aquela onde, receptoras encontram-se entre o quarto e oitavo dia de ovulação, ou seja, relacionado com a ovulação da doadora (D0), e a coleta de embrião no dia 7, a receptora poderia ovular um dia antes (+1) até 3 dias depois (-3), sendo considerada apta a receber embriões neste intervalo (VANDERWALL, 2000; SQUIRES, 2003; LOSINNO e ALVARENGA, 2006; MCKINNON e SQUIRES, 2007; HARTMAN, 2011).

Em estudos Jacob et al. (2002) relata que receptoras podem ovular um dia antes até cinco dias após a doadora, não afetando as taxas de prenhez. Dez anos mais tarde, Jacob et al. (2012) em experimento chegaram a resultados de 76% e 61% de taxas de prenhez com receptoras ovuladas 4 e 5 dias após a doadora, respectivamente. Confirmando o que haviam dito em 2002.

Então, como resultado deste experimento, diversos são os benefícios como: um menor número de éguas para alimentar e manejar, menos exames reprodutivos, menos custos com tratamentos hormonais e menor necessidade de mão de obra. Isso se deve ao fato de que menos receptoras poderiam ser utilizadas, decorrente deste aumento de intervalo.

Para Carnevale et al. (2000) não mais a sincronização entre doadora e receptora tem importância fundamental no momento da escolha da receptora para a TE, mas sim, o momento pós-ovulatório em que a receptora se encontra.

Em outra linha de pesquisa, Fleury et al. (2006) e Alonso (2007) observaram não ter diferença significativa se utilizadas receptoras entre o 3º e o 8º dias pós-ovulação, não obtendo diferenças significativas desde que as éguas apresentem ecogenicidade uniforme, endométrio homogêneo e útero tubular com bom tônus.

## 2.5 COLHEITA DOS EMBRIÕES

São dois os métodos conhecidos de colheita de embriões: o cirúrgico, sendo aquele que foi descrito por Allen e Rowson (1975), que consiste na lavagem do oviduto para a obtenção de embriões em estágios iniciais de desenvolvimento; e o não-cirúrgico, por via transcervical, que foi descrito primeiramente pelos pesquisadores japoneses Oguri e Tustsumi (1972), que utilizaram um cateter de três vias.

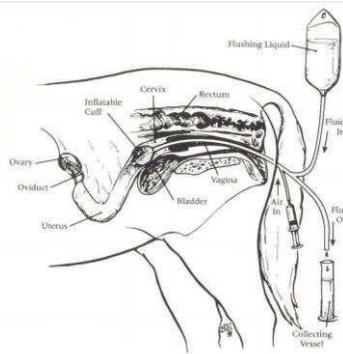
A coleta de embrião padrão é a realizada por lavagem transcervical uterina não cirúrgica (VANDERWALL, 2003), sendo considerado relativamente simples (OGURI, 1972).

O embrião em desenvolvimento, na égua doadora, migra do oviduto para o útero entre 5 (HINRICHS e CHOI, 2005) a 5,5 dias (LOSINNO, 2009) após ocorrer a ovulação, encontrando-se na fase de mórula compactada, prontos para o desenvolvimento inicial de blastocisto. Após entrar no lúmen uterino, o seu tamanho aumenta drasticamente atingido o estado de blastocisto expandido (ENGLAND, 2005; MCKINNON e SQUIRES, 2007; LIRA et al., 2009).

A colheita de embriões é realizada somente a partir do 6º dia pós-ovulação, sendo neste dia, com indicação primária para congelamento (SQUIRES e SEIDEL, 1995). Normalmente os embriões são coletados no 7º ou 8º dias após a ovulação, sendo preferencialmente coletados no 8º dia, pois já poderão ser visualizados a olho nu (HINRICHS & CHOI, 2005). Em éguas idosas, os embriões não devem ser coletados no 7º dia pós-ovulação, já que muitos acreditam que o trajeto do embrião no oviduto é mais demorado (SQUIRES et al., 1999). No entanto, a coleta deverá ser realizada até o 9º dia pós-ovulação, pois aumentam os riscos de dano embrionário durante a coleta e transferência, devido ao aumento de tamanho do embrião e da eclosão da zona pelúcida. As melhores taxas de transferências são alcançadas quando os embriões são recuperados entre o 7º ou 8º dias pós-ovulação (SQUIRES e SEIDEL, 1995).

Para iniciar o procedimento, a égua deverá ser colocada em um brete de palpação, ter seu reto esvaziado (VANDERWALL, 2003), sua cauda enfaixada e amarrada, sua região perineal deverá ser bem lavada, primeiramente com sabão desinfetante e por fim com solução iodada e em seguida secada (LOSINNO, 2009).

O procedimento mais utilizado e recomendado na rotina de colheita de embrião é a colheita bilateral simultânea posicionando o cateter no corpo uterino. Para iniciar a lavagem (flushing) é necessário que todo o material que venha a entrar em contato com o aparelho reprodutor da doadora esteja esterilizado. Então o Médico Veterinário, com uma luva de palpação esterilizada, introduz o cateter de silicone com cerca de 80 cm de comprimento, um diâmetro de cerca de 8 mm e com um balão de ar próximo da extremidade, cuidadosamente no interior do útero da égua, através do canal cervical. Em seguida o balão é insuflado com aproximadamente 50 – 75 ml de ar e tracionado caudalmente para que fique em contato com a óstio cranial cervical (LOSINNO, 2009).



**Figura 1 - Lavagem uterina**

Fonte: <http://www.equipordata.com/JO/VET/vet4/01.jpg>

Uma vez o cateter inserido no corpo do útero, o órgão é lavado de três a quatro vezes, com 1 a 2 litros em cada lavado, com Solução Salina Fosfatada Tamponada (PBS), previamente aquecida (30 – 35 °C), contendo 1% de Soro Fetal Bovino (SFB), penicilina (100 unidades/ml) e estreptomicina (100 µg/ml) (VANDERWALL, 2000); ou Ringer com Lactato, obtendo taxas de prenhez semelhante, 57% e 64% (ALVARENGA et al., 1992). Sendo no Brasil, o Ringer com lactato a solução de lavado mais utilizada (DAELS, 2007).

Escolhido a solução de lavagem, por gravidade a solução entra no útero que é massageado por via retal, para que a solução percorra todo o órgão e o embrião seja captado pela sonda. O meio é recolhido por gravidade através do mesmo sistema, por manuseamento dos presilhas (fechando a presilha permite a entrada de solução para o útero e abrindo-a permite a saída da solução do útero para a proveta). À extremidade inferior do sistema é conectado um filtro de 75 µm, onde a solução de lavagem passa, é filtrada, e é captada numa proveta para se ter controle da quantidade extraída, e o embrião deve ficar retido no filtro (MCCUE, NISWENDER e MACON, 2003).



**Figura 2 - Colheita de embrião.**

Fonte: <http://eq7.com.br/site/wp-content/uploads/2011/10/te1.jpg>

Fleury et al. (2001) realizou experimento para colheita dos embriões de 7<sup>o</sup> e 8<sup>o</sup> dias após a ovulação. Ele utilizou cateteres possuindo balão de capacidade para 75 ml, cujo comprimento foi ampliado para 40 cm com mangueira plástica siliconizada. Após introduzir o cateter pela cérvix (via mano-vaginal) e alojá-lo no corpo uterino, o balão foi inflado com 50 ml de ar e tracionado caudalmente para ser mantido em íntimo contato com a porção uterina da cérvix. Após a fixação do cateter no corpo uterino, 700 ml de Ringer com lactato, aquecido a 37<sup>o</sup>C, foram infundidos por gravidade e recolhidos por sifonagem em proveta graduada, repetindo-se a operação por mais uma ou duas vezes consecutivas, quando necessário, com volume de 500 ml para cada infusão (2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> frações da colheita). Todo o líquido drenado do útero passou através de um filtro (75  $\mu$ m) para reter o embrião, tomando-se cuidado para que permanecessem no filtro aproximadamente 30 ml de meio. A cada fração da colheita realizada, o líquido contido no filtro era colocado em Placas de Petri siliconizadas, procurando-se os embriões com auxílio de um estereomicroscópio (lupa) com aumento de 10 vezes.

Uma vez identificados, a colheita era interrompida e os embriões eram classificados quanto à morfologia, de acordo com McKinnon e Squires (1988), sob aumento de 40 vezes, e lavados através de 10 passagens consecutivas em PBS enriquecido com 15% de SFB.

Como resultado Fleury et al. (2001) não observou diferença significativa entre os embriões coletados no 7º e 8º dias quanto a percentagem de embriões recuperados, nem nos índices de prenhez. Sendo maiores os embriões coletados no 8º dia.

Imediatamente após o flushing, é necessário administrar PGF2 $\alpha$  na égua doadora para que se dê a luteólise e conseqüentemente o início de um novo ciclo. Se o fluido não for extraído totalmente, administra-se ocitocina endovenosa (SILVA, 2003).

## 2.6 CLASSIFICAÇÃO E MANIPULAÇÃO

Encontrado o embrião, deve-se examinar, sobretudo, a sua qualidade e estágio de desenvolvimento. Este é um procedimento relativamente simples e que não necessita de equipamentos sofisticados, sendo a avaliação subjetiva (MCKINNON et al., 1988).

Para realizar o rastreamento dos embriões é necessário que o líquido retido no filtro seja colocado em uma placa de Petri riscada na sua parte inferior e com o auxílio de um microscópio estereoscópico (lupa) sob aumento de 10 vezes, seja identificado o embrião (FLEURY et al., 2002).

Identificado o embrião, este é aspirado e removido para outra placa menor, contendo meio de manutenção próprio para embriões, onde será avaliado e classificado sob ampliação de 40 vezes na lupa e de acordo com os parâmetros de estágio de desenvolvimento e qualidade, conforme as recomendações da IETS (International Embryo Transfer Society) (FLEURY et al., 2002; STOUT, 2006).



**Figura 3 - Manipulação de embrião.**

Fonte: <http://eq7.com.br/site/wp-content/uploads/2011/10/te3.jpg>

A avaliação da qualidade tem em consideração a morfologia, relacionando-a com a viabilidade. São avaliados quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade da zona pelúcida, e classificados de 1 a 5, sendo o Grau 1 considerando excelente e o 5 degenerado (MCKINNON e SQUIRES, 1988).

Tabela 1- Tabela de classificação dos embriões quanto a qualidade.

Grau 1	Excelente: Embrião ideal esférico com blastómeros de tamanho, cor e textura uniformes.
Grau 2	Bom: Imperfeições mínimas, como alguns blastómeros extrusados, ou formato irregular.
Grau 3	Razoável: Problemas bem definidos mas sem gravidade, como blastómeros extrusados, células degeneradas ou blastocelo colapsado.
Grau 4	Inferior/Mau: Problemas graves, blastocelo colapsado, inúmeros blastómeros extrusados e muitas células degeneradas.
Grau 5	Morto ou não fertilizado: Totalmente degenerados, com rutura ou não fecundados.

Adaptado de: McKinnon & Squires, 1988.

Terminada a avaliação e classificação, o embrião passa por um processo de lavagem, onde é submetido em 10 passagens consecutivas no meio de manutenção, para retirar impurezas presentes na zona pelúcida (VANDERWALL e WOODS, 2007).

Por fim, o embrião é aspirado e envasado em palheta plástica de 0,25 ou 0,5 ml em porções alternadas de solução de manutenção e ar, o que reduz os movimentos do embrião dentro da palheta e assegura a perfeita expulsão do embrião para dentro do útero (SILVA, 2003) ou podem ser mantidos em temperatura ambiente, no meio holding, por duas ou três horas até a transferência (RIERA, 2011), ou ainda mantidos em meio holding e resfriado, para poderem ser transportados (HARTMAN, 2011). Fertilidade de embriões refrigerados a 5°C por 24 horas não são afetadas (CARNEY et al., 1991).

## 2.7 INOVULAÇÃO

Lira et al., 2009, definiu inovulação como o ato de depositar o embrião no corpo do útero utilizando uma pipeta de inseminação que entra pela vagina e atravessa a cérvix (transcervical).

Alguns tipos de aplicadores tem sido descritos, como o modelo Hannover de TE em bovinos, porém é a pipeta de inseminação artificial tem sido a mais utilizada (CARNEVALE et al., 2000).

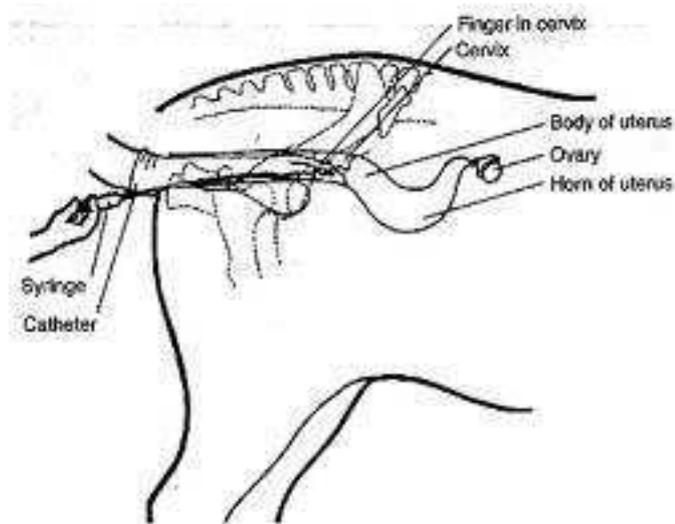
Na transferência transcervical, todos os procedimentos de higiene adotados para a doadora devem ser adotados também para a receptora (BLANCHARD et al., 1998).

Cada operador tem suas particularidades no momento de manipular a pipeta, sendo o mais importante que seja assegurado que a pipeta adentre ao útero sem que leve contaminação para o interior do órgão, assim como deve evitar traumatismos por mínimos que sejam (HINRICHS e CHOI, 2005).

A técnica consiste em puxar cerca de 4 ml de ar para o interior da seringa acoplada à pipeta e a extremidade da esta ser ser posicionada junto a Placa de Petri contendo o embrião (BLANCHARD et al., 1998). A pipeta é preenchida,

respeitando-se a seguinte sequência: coluna de meio (PBS + 15% de SFB) + coluna de ar + coluna de meio contendo o embrião + coluna de ar + coluna de meio (FLEURY et al., 2001).

Alguns cuidados são essenciais no momento da transferência para garantir o sucesso do procedimento. Deve ser assegurado que a pipeta não entre em contato com a vulva ou vagina, a fim de não levar contaminação para o interior do útero (HINRICHS e CHOI, 2005; STOUT, 2006), podendo ser através da colocação de uma camisa de plástico estéril na pipeta, que será introduzida até ao óstio externo da cérvix, onde a camisa é puxada caudalmente, avançando a pipeta através da porção cranial da cérvix até ao lúmen uterino (HINRICHS e CHOI, 2005); e com o mínimo de dilatação do canal cervical, evitando traumatizá-lo bem como ao endométrio. Quando finalmente se encontra no corpo do útero o embrião é expelido da pipeta, e esta é retirada.



**Figura 4 - Inovulação de embrião.**

<http://www.equipordata.com/JO/VET/vet5/02.jpg>

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O domínio desta biotecnologia reprodutiva eqüina tem trazido importantes ganhos para o desenvolvimento da equinocultura. Sendo de fundamental importância conhecimento sobre sincronização estral e da ovulação entre doadora e receptora.

A implantação da transferência de embriões possibilita a obtenção de mais de um produto por ano/doadora, o que permite elevar ganho genético nesta espécie.

#### 4 REFERÊNCIAS

ALLEN W. R. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 40, n. 4, p. 310-329, Aug. 2005.

ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Surgical and non surgical egg transfer in horses. **J. Reprod. Fertil.**, (Suppl. 23): 525-530, 1975.

ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Transfer of ova between horses and donkeys. **Animal Breed Abstract**, v. 40, p. 484-487, 1972.

ALLEN, W. R.; TIPLADY, C. A.; BUTLER, S.; MACKLEY, M. R. Rheological characterization of estrous uterine fluid in the mare. **Theriogenology**, v. 58, p. 503-506, 2002.

ALONSO, M. A. Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas à receptora de embrião. 2008. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Campus de Botucatu. Botucatu – SP.

ALONSO, M. A. et al. Efeito da idade da égua doadora na taxa de perda embrionária. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 33, p. 204, 2005. Suplemento 1.

ALONSO, M. A., Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas à receptora de embrião. 2007. 97 f. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista —Júlio De Mesquita Filho**, Botucatu, 2007.

ALVARENGA, M. A.; ALVARENGA F. C. L.; MEIRA, C. Some modifications in the technique used to recover equine embryo. **Resumos 13rd International Symposium on Equine Embryo Transfer**, Buenos Aires, Argentina. p. 34-35, 1992.

ALVARENGA, M. A. Problems and solutions in equine embryo transfer programs in Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 38, p. s319-s333, 2010. Suplemento 1.

ANDRADE, L. S. O ciclo estral da égua e o seu controle endócrino. **Fisiologia e manejo da reprodução eqüina**, 2<sup>o</sup> ed, Recife, p.57-63,1986.

BLANCHARD, T. L.; BRINSKO, S. P.; RIGBY, S. L. Effects of deslorelin or hCG administration on reproductive performance in firstpostpartum estrus mares. **Theriogenology**, v. 58, p. 165-169, 2002.

BLANCHARD, T. L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J. Reproductive physiology of the nonpregnant mare. In: **Manual of equine reproduction**. St Louis: Mosby, 1998. p. 9-14.

BRADECAMP, E. A. Estrous Synchronization In: SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; McKINNON, A. O. **Current Therapy in Equine Reproduction**. St. Louis: Saunders, 2007. p.22-25.

CABRERA, L.; FERNANDES, L. C.; MORAES, C. M. M. Composição de leite de éguas PSI e desenvolvimento ponderal de suas crias. **A Hora Veterinária**, v.10, n.55, 1990.

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

CARNEVALE, E. M.; RAMIREZ, E. L.; SQUIRES, E. L. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-979, 2000.

CARNEY, N. J. et al. Comparison of pregnancy rates from transfer of fresh versus cooled, transported equine embryos. **Theriogenology**, Los Altos, v. 36, n. 1, p. 23-31, July, 1991.

CARNEY, N. J.; SQUIRES, E.L.; COOK, V.M; SEIDEL, G.E.; JASKO, D.J. Comparison of pregnancy rates from transfer of fresh versus cooled transported equine embryos. **Theriogenology**, 36 (1):23-31, 1991.

DAELS, P. Embryo transfer tips and tricks. **Proceedings 5th European Veterinary Conference**, Voorjaarsdagen, Amsterdam, p.213-215, 2007.

DUCHAMP, G.; BOUR, B.; COMBARNOUS, Y.; PALMER, E. Alternative solutions to hCG induction of the ovulation in the mare. **Jornal of Reproduction and Fertility**. v.35(suppl.), p. 221-228, 1987.

ENGLAND, G. Normal Pregnancy. In: **Fertility & Obstetrics in the Horse**. (3th ed.) (pp. 60-70). Oxford: 2005. Blackwell Publishing.

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

FARINASSO, A.; DE FARIA, A.; MARIANTE, S.; DE BEM, A.R. Embryo technology applied to the conservation of equids. **Equine Vet. J. London**, suppl. 8, p. 84 - 86, 1989.

FLEURY, J. J.; PINTO, A. J.; MARQUES, A.; LIMA, C. G.; ARRUDA, R. P. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em eqüinos da raça Mangalarga. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.** São Paulo, v. 38, n. 1, p. 29-33, 2001.

FLEURY, J. J.; FLEURY, P. D.C.; LANDIN-ALVARENGA, F.C. Effect of embryo diameter and storage period on pregnancy rates obtained with equine embryos stored in Ham's F-10 with Hepes Buffer at a temperature of 15-18°C – preliminary results. **Theriogenology**, 58, 749-750, 2002.

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

FLEURY, J. J.; ALVARENGA, M. A.; FIGUEIREDO, J. B.; PAPA, F. O. Transferência de embriões em equinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Porto Alegre, v. 39, n.3, p. 485-487, 1987.

FLEURY, P. D. C.; ALONSO, M. A.; SOUZA, F. A. C.; ANDRADE, A. F. C.; ARRUDA, R. P. Uso da gonadotrofina corionica humana (hCG) visando melhorar

as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.1, p.27-31, 2007.

FLEURY, P. D. C.; ALONSO, M. A.; BALIEIRO, J. C. C. Avaliação da receptora: efeito de características uterinas e tempo de ovulação. In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Araxá. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34 (supl. 1), p.502, 2006.

FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 225-232, 1994.

GONSALVES, P. B. D; FIGUEIREDO, J. R; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas á Reprodução Animal**. São Paulo: Varela, 2002, p. 340.

GORDON, I. Transferencia de Embriones y Biotecnologias Asociadas en la Especie Equina. In G. Palma, **Biotecnología de la Reproducción**. (3ª edição). (pp. 589 – 624). Mar de Plata: 2008. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Ediciones.

HARTMAN, D. L. Embryo Transfer. In: McKINNON, A.O. et al. **Equine reproduction**. v. 2, cap. 303, p. 2871-2879, 2 ed. Oxford: Wiley- Blackwell, 2011.

HINRICHS, K.; CHOI, Y. Assisted reproductive techniques in the horse. **Clinical Techniques in Equine Practice**, p.210-218, 2005.

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

JACOB, J. C. F.; DOMINGUES, I. B.; GASTAL, E. L. et al. The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v.57, n.1, p. 545, 2002.

LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; MAURAGIS, D.; KLAPSTEIN, E.; TRAN, T. Oxytocin enhances clearance of radiocolloid from the uterine lumen of reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. **Equine Veterinary Journal**. V.26, p.279- 282, 1994.

LIRA, R. A., PEIXOTO, G. C. X., SILVA, A.R. Transferência de embrião em eqüinos: Revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.4, 2009, p.132-140.

LOSINNO, L. Factores críticos del manejo embrionario en programas de transferencia embrionaria en eqüinos. **Proceedings del I Congreso Argentino de Reproducción Equina**, 89-94, 2009.

MORRIS, L.H.; ALLEN, W.R. Reproductive efficiency of intensively managed thoroughbred mares in Newmarket. **Equine Veterinary Journal**. v.34, p.51-60, 2002.

ALLEN, W. R.; ROWSON, L. E. A. Transfer of ova between horses and donkeys. **Animal Breed Abstract**, v. 40, p. 484-487, 1972.

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

LOY, R. G.; BUEL, J. R.; STEVENSON, W.; HAMM, D. Sources of variation in response intervals after prostaglandin treatment in mares with functional corpora lutea. **J. Reprod. Fertil.**, (Suppl. 27), p.229-235, 1979.

LYLE, S. K. Infectious Problems in the Last Trimester of Pregnancy. In: SAMPER, J. C.; **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**. 2 ed. Missouri: Suanders elsevier, 2000. c.21, p. 249-253.

LYONS, E. T.; IONITA, M.; TOLLIVER, S. C. Important Gastrointestinal parasites. In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine reproduction**. V. 1, ed 2. Oxford: Blackwell Publishing; 2011, p.292-231.

McCUE, P.; NISWENDER, K.; MACON, K. Modification of the flush procedure to enhance embryo recovery. **Journal of Equine Veterinary Science**, 23 (8), 336 – 337, 2003.

McCUE, P. M.; VANDERWALL, D. K.; KEITH, S. L. et al. Equine embryo transfer: influence of endogenous progesterone concentration in recipients on pregnancy outcome. **Theriogenology**. 51, 267, 1999.

McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Equine embryo transfer. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.192, p.305-333, 1988.

McKINNON, A.O.; SQUIRES, E. L. Embryo transfer and related technologies. **In: Current Therapy Equine Reproduction**. Saunders, Missouri. 2007, p.319-334.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M. et al. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, 29, 1055-1063, 1988.

MEIRA, C. Endocrinologia da Reprodução, Dinâmica Folicular, Superovulação e Transferência de Embriões na Espécie Equina. (Área da Reprodução) – **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP**, 2007.

MEIRA, C.; HENRY, M. Evolution of two non-surgical equine embryo transfer methods. **J. Reprod. Fertil. Colchester**, supl. 44, p. 712 – 713, 1991.

OGURI, N., TSUTSUMI, Y. Nonsurgical egg transfer in mares. **J. Reprod. Fertil. London**, v.41, p. 313, 1974.

OGURI, N., TSUTSUMI, Y. Nonsurgical recovery of equine eggs, and an attempt at nonsurgical egg transfer in horse. **J Reprod. Fertil. London**, v. 31, p. 187, 1972.

OGURI, N.; TSUTSUMI, Y. Nonsurgical transfer of equine embryos. **Arch. Androl.**, v.5, p.108, 1980.

PERES, K. R.; TRINQUE, C. L. N.; LIMA, M. M. et al. Non-surgical equine embryo transfer: a retrospective study. **Theriogenology** , v.57, n.1, p.558, 2002.

RICKETTS, S. W.; ALONSO, S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. **Equine Veterinary Journal**, v.23, p.189-192, 1991.

RIERA, F. L. General techniques and organization of large commercial embryo transfer programs. **Clinical Theriogenology**, Philadelphia, v. 3, p. 318-324, 2011.

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

ROCHA FILHO, A.N.; PESSÔA, M.A.; GIOSO, M.M.; ALVARENGA, M.A. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 91-95, 2004.

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A.; PINTO, L. F. B.; CORASSA, A.; PIMENTEL, R. R. M.; SILVA, V. P.; GALZERANO, L. Lactação em Éguas da Raça Mangalarga Marchador: Produção e Composição do Leite e Ganho de Peso dos Potros Lactentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.627-634, 2005.

SCHOON, H. A.; SCHOON, D.; KLUG, E. Vascular lesions in the equine endometrium. **Pferdeheilkunde**, v.13, p.546, 1997.

SILVA, E. S. M.; FRADE, S.; FERREIRA, J. C.; PUOLI FILHO, J. N. P.; MEIRA, C. Effect of interrupting altrenogest treatment in non-cyclic recipient mares on pregnancy maintenance: partial results. **Resúmenes del II Congreso Argentino de Reproducción Equina**, 1<sup>o</sup> Ed. Editorial Universidad Nacional de Rio Cuarto, p.551-553, 2011.

SILVA, L. A. Técnica ultra-sonográfica de injeção intra-uterina para transferência de embriões em eqüinos. **MS. Tese. Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa-MG, Brasil, 123pp, 2003.

SQUIRES, E. L. Management of the embryo donor and recipient mare. In: ROBINSON, N. E. (Ed.). **Current therapy in equine medicine 5**. Philadelphia: Saunders, 2003: p. 277-279.

SQUIRES, E. L.; SEIDEL, G. E. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory**, n. 8, 1995, 64 p.

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

SQUIRES, L.E. Hormonal manipulation of the mare: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.28,n.11,p.627-634, 2008.

STOUT, T. A. E. Equine embryo transfer: review of developing potential. **Equine Veterinary Journal**. v.38, n.5, p.467-478, 2006.

TESTA, A. C.; CARMO, M. T.; ALVARENGA, M. A. Perda embrionária precoce em éguas receptoras de embrião em anestro tratadas com progesterona de longa ação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.198- 200, 2005.

TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R. **Manual de Obstetrícia Veterinária**. Varela, São Paulo, 1993, p.79-83.

TROEDSSON, M. H. T. **Therapeutic consideration for mating-induced endometritis**. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.516-520, 1997.

VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. Embryo transfer and newer assisted reproductive techniques for horses, p 211-219. In: YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W. R. (Ed.). **Current therapy in large animal theriogenology**. Philadelphia: Saunders, 2007, p. 211-219.

VANDERWALL, D. **Current equine embryo transfer techniques**. Acessado em 10/05/2014. Disponível em: <http://www.woodfordequine.com/embryo%20transfer.pdf>.

VANDERWALL, D. K. Embryo collection, storage and transfer. In: RONBINSON, N. E. (Ed.). **Current therapy in equine medicine 5**. Philadelphia: Saunders, 2003. p. 280-285.

VANDERWALL, D. K.; NEWCOMBE, J. R. Early Embryonic Loss. In: SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; McKINNON, A. O. **Current Therapy in Equine Reproduction**. 1º Ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2007, cap.55, pg. 377.

VOGELSANG, S. G.; SORENSEN, A. M.; POTTER, G. D.; BURNS, S. J.; KRAEMER, D. C.; Fertility of donor mares following nossurgical collection of embryos. **J. Repord. Fertil.**, (Suppl. 27), p.383-386, 1979.

WILSHER, S.; KÖLLING, M.; ALLEN, W. R. The use of meclofenamic acid to extend donorecipient asynchrony in equine embryo transfer. In: ALM, H.; TORNER, H.; WADE, J. F. (Ed.). **Proceedings of a workshop: international equine gamete group**. Kuhlungsborn: Havemeyer Foundation, 2005, p. 56 – 57.

WILSON, D. W. Vaccination of mares, foals and weanlings. In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. V. 1, ed 2. Oxford: Blackwell Publishing; 2011, p.302-329.

ZERLOTTI, M. Como selecionar e preparar éguas receptoras para a transferência de embriões. In: **CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ**, 13., 2012, Campinas. Anais da Revista Brasileira de Medicina Veterinária Equina, Campinas, v. 41, p. 68- 71, 2012.