

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Colegiado de Pós Graduação em Ciência Animal

**Diferentes aspectos da fecundidade do sêmen de jumentos e  
da gestação de éguas submetidas à  
cruzamentos inter-espécie**

ALICE TEIXEIRA GONCZAROWSKA

Belo Horizonte

Escola de Veterinária – UFMG

2011

Alice Teixeira Gonczarowska

**Diferentes aspectos da fecundidade do sêmen de jumentos e  
da gestação de éguas submetidas à  
cruzamentos inter-espécie**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Monteiro da Silva Filho.

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Myriam Boeta Acosta (Universidade Nacional Autônoma do México).

**Belo Horizonte**

**Escola de Veterinária – UFMG**

**2011**

Gonczarowska, Alice Teixeira, 1985-  
G635d Diferentes aspectos da fecundidade do sêmen de jumentos e da gestação de éguas submetidas à cruzamentos inter-espécie / Alice Teixeira Gonczarowska. – 2011.

304 p. : il.

Orientador: José Monteiro da Silva Filho

Co-orientadora: Ana Myriam Boeta Acosta

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

Inclui bibliografia

1. Asinino – Reprodução – Teses. 2. Égua – Reprodução – Teses. 3. Sêmen – Teses. 4. Fecundidade – Teses. 5. Reprodução animal – Teses. I. Silva Filho, José Monteiro da. II. Boeta Acosta, Ana Myriam. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – 636.180 892 6

Dissertação defendida e aprovada em 13 de dezembro de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:



---

Prof. José Monteiro da Silva Filho  
Presidente



---

Profª. Fernanda da Cruz Landim e Alvarenga



---

Prof. Marc Roger Jean Marie Henry



---

Prof. Ernane Fagundes do Nascimento



---

Prof. Valenim Arabicano Gheller

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.

Francisco Cândido Xavier

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre guiar meus passos e me fortalecer nessa caminhada;

Aos meus pais, Sonia e Rubim, pelo incentivo, por me apoiarem em todas as minhas decisões e sempre acreditarem na minha capacidade;

À minha irmã, Natália, pela amizade, carinho e apoio em todos os momentos;

Ao Aloysio, pelo amor, companheirismo, paciência, e ajuda, sempre;

À Universidade Federal de Minas Gerais e à Escola de Veterinária, pela oportunidade de realização do curso;

Ao professor José Monteiro, pelos ensinamentos, orientação e pela confiança em mim depositada;

À professora Ana Myriam Boeta, pela grande contribuição científica;

À professora Maristela Palhares, pela disponibilidade para a realização das análises estatísticas e pelo material cedido para o experimento;

À professora Renata Maranhão pela grande ajuda no Experimento I;

Aos membros da banca examinadora, pela participação e pelas sugestões enriquecedoras;

À Dra. Raissa Rossi, pela realização do experimento II, e por ter cedido os dados que fizeram parte dos experimentos I e II, que enriqueceram profundamente esta dissertação;

Ao senhor Tarcisio Resende, proprietário da Fazenda Santa Edwiges, por ter disponibilizado os animais e a infra-estrutura da fazenda, pela confiança, e pela energia positiva durante toda a realização deste trabalho;

À família Resende: Dona Carmem, Tarcisinho, Mari e Fia, por terem nos recebido como membros da família e terem nos proporcionado momentos de muita alegria;

Aos funcionários da Fazenda Santa Edwiges, em especial ao Alexandre, Wisner, Gilmar, Ricardo e dona Euzi, por toda a ajuda e paciência;

Ao Sr. Renato Resende, proprietário da Fazenda do Vau, pela receptividade para realização dos experimentos, pela disponibilização dos animais e da infraestrutura da fazenda, pela credibilidade, pelo apoio e incentivo constantes durante a realização do Experimento II;

Ao Dr. Euler Andrés Ribeiro, pela receptividade e grande apoio, por ter cedido todos os dados de ultrassonografia do Experimento II e parte dos dados do Experimento I;

À cidade de Lagoa Dourada, pela hospitalidade, especialmente à dona Haidê pela preocupação e cuidado, e à padaria do Jaci, pelos brigadeiros e rocamboles proporcionados;

Às companheiras de experimento Amanda e Laura, pela convivência, amizade, experiências compartilhadas e ajuda em todos os momentos;

Às amigas de curso, Carol, Amandinha, Nicole, Rute e Patrícia, pela companhia, incentivo, amizade, e ajuda em todos os momentos;

À Carol, pela amizade, e por ter se tornado minha irmã nesses três anos de convivência;

À estagiária Maria, pela colaboração durante a realização dos Experimentos I, III e IV;

Aos estagiários Yolanda, Mariana, Ronaldo, Fernanda e Ivan pela grande ajuda na realização do experimento II e por terem contribuído para a produção de parte dos dados dos Experimentos I e V;

À Yolanda, pela atenção, responsabilidade e ajuda na coleta dos dados relativos aos experimentos I, II e V;

Aos professores da Reprodução Animal da UFMG, pelos ensinamentos e dedicação;

Aos professores Coordenadores do Colegiado de Pós Graduação, Romário Cerqueira Leite e Roberto Guedes, pela compreensão e apoio constantes no transcorrer desta dissertação;

Aos funcionários da Escola de Veterinária da UFMG, especialmente ao Fábio, Tião, Luíz e Dário, por toda a ajuda;

Aos animais, por toda a alegria proporcionada;

Expresso meus sinceros agradecimentos à todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

---

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b>	29
<b>ABSTRACT</b>	31
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	33
<b>2.OBJETIVOS</b>	34
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>	34
<b>3.1. Aspectos relativos à fisiologia reprodutiva da égua</b>	34
3.1.1. Estacionalidade reprodutiva	34
3.1.1.1. Estação anovulatória	36
3.1.1.2. Período transicional	37
3.1.1.3. Controle neuroendócrino da estacionalidade reprodutiva	37
3.1.1.3.1. Melatonina	37
3.1.1.3.2. Neurotransmissores	38
3.1.2. Ciclo estral	40
3.1.2.1. Dinâmica folicular ovariana	41
3.1.2.1.1. Emergência, divergência e dominância folicular	41
3.1.2.1.1.1. Fatores intrafoliculares envolvidos na divergência folicular	42
<b>3.2. Eficiência reprodutiva na égua</b>	47
3.2.1. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na égua	47
3.2.1.1. Efeito do método de acasalamento	47
3.2.1.2. Efeito do intervalo inseminação artificial/cobrição à ovulação sobre a fertilidade de éguas	49
3.2.1.3. Efeito do número de inseminações artificiais/ciclo	52
3.2.1.4. Efeito da categoria reprodutiva da égua	53
3.2.1.5. Efeito da idade da égua	56
3.2.1.6. Efeito do reprodutor	58
3.2.1.7. Duração da gestação e sexo dos produtos	60
3.2.2. Eficiência reprodutiva em éguas gestando embriões muares	64
<b>3.3. Aspectos relativos à gestação equina</b>	65
3.3.1. Reconhecimento materno da gestação	65
3.3.2. Endocrinologia da égua gestante	67
3.3.2.1. Gonadotrofina coriônica equina (eCG)	67
3.3.2.1.1. Formação e destruição dos cálices endometriais	68
3.3.2.1.1.1. Efeito do genótipo fetal no desenvolvimento dos cálices endometriais	70
3.3.2.1.2. Estrutura bioquímica da gonadotrofina coriônica equina (eCG)	72
3.3.2.1.3. Secreção da gonadotrofina coriônica equina (eCG)	73
3.3.2.1.3.1. Fatores que afetam a secreção de eCG	74
3.3.2.1.4. Papel da eCG na gestação equina	75
3.3.2.1.5. Dinâmica folicular ovariana na gestação	77
3.3.2.1.6. Formação dos corpos lúteos primário e secundários	79
3.3.2.1.7. Produção de hormônios esteroides	80
3.3.2.1.7.1. Progesterona	80
3.3.2.1.7.2. Andrógenos	82
3.3.2.1.7.3. Estrógenos	83
3.3.3. Placentação equina	84
<b>3.4. Perdas gestacionais</b>	86



3.4.1. Morte embrionária	86
3.4.1.1. Fatores intrínsecos à morte embrionária	88
3.4.1.1.1. Doença uterina	88
3.4.1.1.2. Deficiência de progesterona	89
3.4.1.1.3. Idade materna	91
3.4.1.1.4. Categoria reprodutiva da égua	94
3.4.1.1.5. Momento da inseminação em relação à ovulação	95
3.4.1.2. Fatores extrínsecos à morte embrionária	97
3.4.1.2.1. Estresse, nutrição e condições climáticas	97
3.4.1.2.2. Efeito do reprodutor e manipulação/ processamento do sêmen	98
3.4.1.2.3. Fatores embrionários	99
3.4.2. Morte fetal	100
3.4.3. Aspectos relativos às gestações intra e interespécies de equídeos	102
<b>3.5. Aspectos relacionados ao garanhão</b>	105
3.5.1. Frações do ejaculado do garanhão	105
3.5.2. Características físicas e morfológicas do sêmen	105
3.5.2.1. Coloração e aspecto do sêmen	105
3.5.2.2. Volume de sêmen	105
3.5.2.3. Pressão osmótica e pH do sêmen	106
3.5.2.4. Motilidade e vigor espermáticos	106
3.5.2.5. Aglutinação espermática	106
3.5.2.6. Concentração espermática	107
3.5.2.7. Morfologia espermática	107
3.5.3. Coleta do sêmen	108
3.5.3.1. Coleta fracionada	109
3.5.3.2. Frequência de coletas	110
3.5.4. Resfriamento do sêmen de equídeos	110
3.5.4.1. Influência da taxa de resfriamento e do choque térmico sobre a membrana plasmática dos espermatozoides	111
3.5.4.2. Curva de resfriamento do sêmen de equídeos	112
3.5.4.3. Diluidores	113
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	115
<b>4.1. Localização, condições climáticas e período experimental</b>	115
<b>4.2. Delineamento experimental</b>	116
4.2.1. Experimento I – Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies	116
4.2.2. Experimento II	117
4.2.2.1. Experimento IIa - Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou glicina-gema de ovo (GGO)	117
4.2.2.2. Experimento IIb - Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou glicina - gema de ovo (GGO), resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial	118
4.2.3. Experimento III	121
4.2.3.1. Experimento IIIa: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou lactose-gema de ovo modificado (LGO), resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial	121
4.2.3.2. Experimento IIIb: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em diluidor de leite em pó desnatado glicose (LPDG), resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial, nas doses de 400 ou 800 x 10 <sup>6</sup> de espermatozoides móveis	122
4.2.4. Experimento IV: Fertilidade de éguas submetidas à regime de monta natural controlada, utilizando-se reprodutores asininos ou equinos	123

4.2.5. Experimento V: Metanálise envolvendo a fertilidade e as perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies	125
<b>4.3. Manejo reprodutivo e nutricional das éguas</b>	126
4.3.1. Experimento II	126
4.3.2. Experimentos III e IV	128
<b>4.4. Manejo reprodutivo e nutricional dos reprodutores</b>	130
4.4.1. Experimento II	130
4.4.2 Experimento III	130
4.4.3. Experimento IV	130
<b>4.5. Composição dos diluidores utilizados</b>	131
4.5.1. Experimento II	131
4.5.2. Experimento III	131
<b>4.6. Preparo dos diluidores utilizados</b>	132
4.6.1. Experimento II	132
4.6.2. Experimento III	132
<b>4.7. Coleta, avaliação e diluição do sêmen</b>	132
4.7.1. Experimento II	132
4.7.2. Experimento III	133
<b>4.8. Preparo das doses inseminantes e resfriamento do sêmen</b>	135
4.8.1. Experimento II	135
4.8.2. Experimento III	135
<b>4.9. Avaliação do sêmen e inseminação artificial</b>	136
4.9.1. Experimento II	136
4.9.2. Experimento III	136
4.9.3. Experimento IV - Preparo das éguas e dos reprodutores para a monta natural	137
<b>4.10. Análises estatísticas</b>	137
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	145
<b>5.1. Experimento I: Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies</b>	145
<b>5.2. Experimento II</b>	152
<b>Experimento IIa - Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen a Fresco Diluído nos Diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO).</b>	152
<b>Experimento IIb – Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen Diluído nos Diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO), Resfriado e Estocado à 5°C em Contêiner Especial.</b>	152
5.2.1. Eficiência reprodutiva de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado.	152
5.2.2. Efeito do jumento sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, da concepção ao parto.	159
5.2.3. Efeito da categoria reprodutiva sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto.	162
5.2.4. Efeito da idade sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto.	166
5.2.5. Efeito do mês sobre as taxas de ovulação, concepção/ciclo e perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga	170

<b>5.3. Experimento III</b>	175
5.3.1. Experimento IIIa: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou lactose-gema de ovo modificado (LGO), resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial	175
Experimento IIIb: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (LPDG), resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial, nas doses de 400 ou 800 x 10 <sup>6</sup> espermatozoides móveis	175
<b>5.4. Experimento IV: Fertilidade e perdas gestacionais de éguas submetidas à monta natural controlada, utilizando-se reprodutores asininos ou equinos.</b>	187
<b>5.5. Metanálise envolvendo a fertilidade e as perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou Interespécies</b>	197
5.5.1. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies	197
5.5.2. Efeito da categoria reprodutiva sobre as perdas gestacionais de éguas envolvidas em cruzamentos intra ou interespécies	200
5.5.3. Efeito do mês ou do bimestre da ovulação sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies	202
<b>6. CONCLUSÕES</b>	207
<b>7. PROPOSTAS FUTURAS</b>	208
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	209
<b>9. ANEXOS</b>	240

---

**LISTA DE FIGURAS**

---

Figura 1. Imagem digitalizada de vesícula embrionária aos 18 dias de gestação, obtida na estação de monta 2007/2008, à qual foi mensurada através do programa Image J <sup>3</sup>	117
Figura 2. Mensuração de vesícula embrionária aos 13 dias de gestação, utilizando-se aparelho ultrassonográfico <sup>4</sup> , durante a estação de monta 2010/2011.	117
Figura 3. Organograma para o controle reprodutivo das éguas	127
Figura 4. Rufiação e coleta (Experimento II)	139
Figura 5. Material pré-coleta (Experimento III)	140
Figura 6. Preparo do diluidor lactose-gema de ovo (LGO) modificado (Experimento III)	141
Figura 7. Coleta e resfriamento do sêmen (Experimento III)	142
Figura 8. Experimento III	143
Figura 9. Vesículas embrionárias (Experimento I)	144
Figura 10. Vesículas embrionárias	144
Figura 11. Vesículas embrionárias (Experimento I)	146
Figura 12. Vesículas embrionárias (Experimento I)	147
Figura 13. Vesículas embrionárias. a)35 dias; b)37 dias	148

---

**LISTA DE GRÁFICOS**

---

Gráfico 1. Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies (jumento x égua).	145
Gráfico 2. Taxa de perdas gestacionais observadas em éguas inseminadas com sêmen asinino, diluído ou diluído e resfriado, da concepção ao parto.	155
Gráfico 3. Taxa de perda gestacional em éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado, de acordo com o mês de cobertura, avaliadas da concepção ao parto.	171

---

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1. Dados meteorológicos médios do período experimental relativos ao experimento II	116
Tabela 2. Dados meteorológicos médios do período experimental relativos os experimentos III e IV.	116
Tabela 3. Distribuição de 77 ciclos de 67 éguas, por jumento e tratamento, no Experimento IIa.	118
Tabela 4. Distribuição dos 195 ciclos de éguas mestiças, por jumento e tratamento, no experimento IIb	119
Tabela 5. Distribuição dos 195 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva, dentro de cada tratamento, no experimento IIb	119
Tabela 6. Distribuição dos 195 ciclos de éguas mestiças, por idade, dentro de cada tratamento, no Experimento IIb	119
Tabela 7. Distribuição de 44 ciclos de éguas mestiças, por jumento e tratamento, no experimento IIIa	121
Tabela 8. Distribuição de 44 ciclos de éguas mestiças, por idade e tratamento, no experimento IIIa	121
Tabela 9. Distribuição de 44 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva e tratamento, no experimento IIIa.	121
Tabela 10. Distribuição de 79 ciclos de éguas mestiças, por jumento e tratamento, no experimento IIIb	122
Tabela 11. Distribuição de 79 ciclos de éguas mestiças, por idade e tratamento, no experimento IIIb	122
Tabela 12. Distribuição de 79 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva e tratamento, no experimento IIIb	122
Tabela 13. Distribuição das éguas por número, ciclo e tratamento, no experimento IV	123
Tabela 14. Distribuição dos 74 ciclos de éguas mestiças, por idade e tratamento, no experimento IV	123
Tabela 15. Distribuição dos 74 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva e tratamento, no experimento IV	123
Tabela 16. Distribuição dos 74 ciclos de éguas mestiças, por reprodutor e tratamento, no experimento IV	123
Tabela 17. Composição dos diluidores utilizados nos Experimentos IIa e IIb	131
Tabela 18. Composição dos diluidores utilizados nos Experimentos IIIa e IIIb	131
Tabela 19. Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies (jumento x égua) dos 10 aos 37 dias de gestação	150
Tabela 20. Desenvolvimento embrionário, dos 10 aos 37 dias de gestação, de vesículas muares e asininas (Meira, 1995)	151
Tabela 21. Características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto	153

Tabela 22. Efeito do jumento sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, da concepção ao parto	161
Tabela 23. Efeito do jumento sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, da concepção ao parto, excluindo-se o jumento 2	161
Tabela 24. Efeito da categoria reprodutiva sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto	163
Tabela 25. Efeito da idade sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto	167
Tabela 26. Influência do mês sobre as taxas de ovulação, concepção/ciclo e de perdas gestacionais (avaliadas da concepção ao parto), de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga	171
Tabela 27. Distribuição das éguas dos experimentos IIIa e IIIb, após agrupamento, por categoria reprodutiva, entre os quatro tratamentos	176
Tabela 28. Distribuição das éguas dos experimentos IIIa e IIIb, após agrupamento, por reprodutor utilizado, entre os quatro tratamentos	176
Tabela 29. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos da raça Pêga, avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 194 dias de gestação	176
Tabela 30. Distribuição das perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos da raça Pêga, avaliadas à diferentes períodos ao longo da gestação (13,57±0,15 a 167,04±1,73 dias)	179
Tabela 31. Distribuição das éguas por mês de ocorrência das ovulações entre os tratamentos do experimento III	185
Tabela 32. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 194 dias de gestação, considerando-se o mês de ocorrência da ovulação	186
Tabela 33. Taxas de concepção e de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos inter (T1) ou intraespécies (T2), avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 205 dias de gestação	188
Tabela 34. Distribuição das perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos com garanhões equinos (cruzamentos intraespécies) ou asininos (cruzamentos interespécies), avaliadas à diferentes períodos ao longo da gestação (12,67±0,18 à 164,78±3,70 dias), no experimento IV	190
Tabela 35. Distribuição das éguas por mês de ocorrência da ovulação, entre os tratamentos do experimento IV	195
Tabela 36. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas cobertas por monta natural, avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 205 dias de gestação, considerando-se o mês de ocorrência da ovulação	196
Tabela 37. Taxas de gestação por ciclo e de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação	197

Tabela 38. Efeito da categoria reprodutiva sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas com gestações intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação	201
Tabela 39. Efeito do mês da ovulação sobre a taxa de perda gestacional de éguas com gestações intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação	203
Tabela 40. Efeito do bimestre de ocorrência da ovulação, sobre a taxa de perda gestacional de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação	203

---

## LISTA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS

---

<b>9.1. Análises estatísticas referentes ao Experimento I - Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies (jumento x égua).</b>	240
9.1.1. Análises estatísticas referentes à tabela 19	240
Análise 1. Comparação dos tamanhos das vesículas embrionárias, em largura e altura, dos 10 aos 37 dias de gestação.	240
Análise 2. Médias dos quadrados mínimos da largura das vesículas embrionárias	240
Análise 3. Médias dos quadrados mínimos da altura das vesículas embrionárias	241
<b>9.2. Análises estatísticas referentes aos experimentos IIa e IIb - Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen a Fresco ou Resfriado, Diluído nos Diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO)</b>	241
9.2.1. Análises estatísticas referentes à tabela 21.	241
Análise 1. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	241
Análise 2. Comparação das taxas de concepção/ciclo de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	242
Análise 3. Comparação da taxa de concepção total de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	242
Análise 4. Comparação da duração da gestação de éguas inseminadas com semen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	242
Análise 5. Comparação do tempo de gestação ao ultimo controle gestacional em éguas inseminadas com semen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	242
Análise 6. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	243
Análise 7. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	243
Análise 8. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	243
Análise 9. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	243
Análise 10. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor LPDG, ou resfriado, diluído no diluidor GGO.	243
Análise 11. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor GGO.	244
Análise 12. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	244
Análise 13. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	244
Análise 14. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	244



Análise 15. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído no diluidor LPDG, ou resfriado, diluído no diluidor GGO.	244
Análise 16. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	245
Análise 17. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor GGO.	245
Análise 18. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	245
Análise 19. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	245
Análise 20. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	245
Análise 21. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	246
Análise 22. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com semen a fresco diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	246
Análise 23. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com semen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	246
Análise 24. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor GGO.	246
Análise 25. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor LPDG ou resfriado, diluído no diluidor GGO.	246
Análise 26. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	247
Análise 27. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	247
Análise 28. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	247
Análise 29. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	247
Análise 30. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG.	247
Análise 31. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor LPDG.	248
Análise 32. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor GGO.	248
Análise 33. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor LPDG, ou resfriado diluído no diluidor GGO.	248
Análise 34. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO.	248

9.2.2. Análises estatísticas referentes à tabela 22	249
Análise 35. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor	249
Análise 36. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 2	249
Análise 37. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3	249
Análise 38. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4	249
Análise 39. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5	250
Análise 40. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 3	250
Análise 41. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 4	250
Análise 42. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 5	250
Análise 43. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4	250
Análise 44. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5	251
Análise 45. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5	251
Análise 46. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor	251
Análise 47. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 2	251
Análise 48. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3	251
Análise 49. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4	252
Análise 50. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5	252
Análise 51. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 3	252
Análise 52. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 4	252
Análise 53. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 5	252
Análise 54. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4	253
Análise 55. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5	253
Análise 56. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5	253

Análise 57. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor	253
Análise 58. Comparação da duração da gestação por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor	254
Análise 59. Comparação das taxas de perda por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor	254
Análise 60. Comparação das taxas de perda ajustada por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor	254
Análise 61. Comparação das taxas de parto de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor	254
Análise 62. Comparação das taxas de parto ajustadas de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor	254
Análise 63. Comparação do sexo dos produtos de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor	255
9.2.3. Análises estatísticas referentes à tabela 23	255
Análise 64. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2	255
Análise 65. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3	255
Análise 66. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4	255
Análise 67. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5	256
Análise 68. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4	256
Análise 69. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5	256
Análise 70. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5	256
Análise 71. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2	256
Análise 72. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3	257
Análise 73. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4	257
Análise 74. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5	257
Análise 75. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4	257
Análise 76. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5	257
Análise 77. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5	258
Análise 78. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2	258

Análise 79. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3	258
Análise 80. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4	258
Análise 81. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5	258
Análise 82. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4	259
Análise 83. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5	259
Análise 84. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5	259
Análise 85. Comparação da duração da gestação por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, excluindo-se o jumento 2	259
Análise 86. Comparação das taxas de perda por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2	260
Análise 87. Comparação das taxas de perda ajustada por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2	260
Análise 88. Comparação do sexo dos produtos de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2	260
9.2.4. Análises estatísticas referentes à tabela 24	260
Análise 89. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva	260
Análise 90. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 1 e 2	261
Análise 91. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 1 e 3	261
Análise 92. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 1 e 4	261
Análise 93. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 2 e 3	261
Análise 94. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, e ntre as categorias reprodutivas 2 e 4	261
Análise 95. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 3 e 4	262
Análise 96. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva	262
Análise 97. Comparação das taxas de concepção por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado.	262
Análise 98. Comparação da duração da gestação por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com semen asinino diluído ou diluído e resfriado	262
Análise 99. Comparação do tempo de gestação ao ultimo controle por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com semen asinino diluído ou diluído e resfriado	263
Análise 100. Comparação das taxas de perda por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado	263

Análise 101. Comparação das taxas de perda ajustada por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado	263
Análise 102. Comparação das taxas de parto de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva	263
Análise 103. Comparação das taxas de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva	263
Análise 104. Comparação do sexo dos produtos de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva	264
9.2.5. Análises estatísticas referentes à tabela 25	264
Análise 105. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade	264
Análise 106. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade	264
Análise 107. Comparação das taxas de concepção por idade, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado	264
Análise 108. Comparação da duração da gestação por idade, de éguas inseminadas com semen asinino diluído ou diluído e resfriado	265
Análise 109. Comparação das taxas de perda por idade, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado	265
Análise 110. Comparação das taxas de perda ajustada por idade, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado	265
Análise 111. Comparação do tempo de gestação ao ultimo controle, por idade, de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado	265
Análise 112. Comparação das taxas de parto de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade	266
Análise 113. Comparação das taxas de parto ajustadas de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade	266
9.2.6. Análises estatísticas referentes à tabela 26	266
Análise 114. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da ovulação	266
Análise 115. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da ovulação, agrupando-se os meses de fevereiro e março	266
Análise 116. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura	266
Análise 117. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de novembro e fevereiro	267
Análise 118. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de novembro e janeiro	267
Análise 119. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de novembro e dezembro	267
Análise 120. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de dezembro e fevereiro	267
Análise 121. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de dezembro e janeiro	267

Análise 122. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de janeiro e fevereiro	268
9.2.7. Análises estatísticas referentes à avaliação do sexo dos produtos	268
Análise 1. Comparação do sexo dos produtos de acordo com a idade de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado nos diluidores LPDG ou GGO	268
Análise 2. Comparação do sexo dos produtos de acordo com a duração da gestação	268
Análise 3. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado	268
Análise 4. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen diluído nos diluidores LPDG ou GGO	268
Análise 5. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor GGO	269
Análise 6. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor LPDG	269
<b>9.3. Análises referentes aos Experimentos IIIa – Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado, diluído em diluidor de LPDG ou LGO e IIIb – Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado em diluidor LPDG, nas doses de 400 x 10<sup>6</sup> ou 800 x 10<sup>6</sup> de espermatozoides móveis.</b>	269
9.3.1. Análises referentes à tabela 27	269
Análise 1. Distribuição das éguas utilizadas no experimento por categoria reprodutiva	269
9.3.2. Análises referentes à tabela 28	269
Análise 2. Distribuição das éguas por reprodutor e tratamento	269
9.3.3. Análises referentes à tabela 29	270
Análise 3. Efeito da idade sobre as perdas gestacionais de éguas inseminadas.	270
Análise 4. Efeito do número de inseminações sobre as perdas gestacionais de éguas inseminadas	270
Análise 5. Idade média das éguas pertencentes aos quatro tratamentos	270
Análise 6. Número médio de inseminações realizadas por tratamento	270
Análise 7. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LGO ou LPDG, ou diluído no diluidor LPDG nas doses de 400 ou 800 x 10 <sup>6</sup> de espermatozoides móveis	270
Análise 8. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO ou LPDG	271
Análise 9. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LPDG ou diluído em diluidor LPDG, na dose de 400 x 10 <sup>6</sup> de espermatozoides móveis	271
Análise 10. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LPDG ou em diluidor LPDG, na dose de 800 x 10 <sup>6</sup> de espermatozoides móveis	271
Análise 11. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO, ou em diluidor LPDG, na dose de 400 x 10 <sup>6</sup> de espermatozoides móveis	271

Análise 12. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO, ou em diluidor LPDG, na dose de $800 \times 10^6$ de espermatozoides móveis	272
Análise 13. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LPDG, nas doses de 400 ou $800 \times 10^6$ de espermatozoides móveis	272
Análise 14. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO ou LPDG, ou em diluidor LPDG, na dose de 400 ou $800 \times 10^6$ de espermatozoides móveis	272
9.3.4. Análises referentes à tabela 30	272
Análise 15. Diagnóstico de gestação de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO ou LPDG, ou em diluidor LPDG, na dose de 400 ou $800 \times 10^6$ de espermatozoides móveis	272
Análise 16. Diagnóstico de gestação no tempo 1	273
Análise 17. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 1	273
Análise 18. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 2	273
Análise 19. Diagnóstico de gestação no tempo 2	273
Análise 20. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 2, entre os tratamentos	273
Análise 21. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 3, entre os tratamentos	273
Análise 22. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 3	274
Análise 23. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 3, entre os tratamentos	274
Análise 24. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 4, entre os tratamentos	274
Análise 25. Diagnóstico de gestação no tempo 4	274
Análise 26. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 4	274
Análise 27. Número de éguas não examinadas, positivas ou negativas ao diagnóstico 5, entre os tratamentos	274
Análise 28. Diagnóstico de gestação no tempo 5	274
Análise 29. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 5, entre os tratamentos	275
Análise 30. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 6, entre os tratamentos.	275
Análise 31. Diagnóstico de gestação no tempo 6.	275
Análise 32. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 6, entre os tratamentos	275
Análise 33. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 7, entre os tratamentos	275
Análise 34. Diagnóstico de gestação no tempo 7	275
Análise 35. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 7, entre os tratamentos	275
Análise 36. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 8, entre os tratamentos	276

Análise 37. Diagnóstico de gestação no tempo 8	276
Análise 38. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 8, entre os tratamentos	276
9.3.5. Análises referentes à tabela 31	276
Análise 39. Distribuição das éguas por mês de ocorrência da ovulação, entre os tratamentos	276
9.3.6. Análises referentes à tabela 32	276
Análise 40. Comparação das taxas de concepção entre os meses da estação de monta	276
Análise 41. Comparação das taxas de perda gestacional entre os meses da estação de monta	277
Análise 42. Número de éguas não examinadas, negativas ou positivas e número de perdas gestacionais entre os meses da estação de monta	277
Análise 43. Número de éguas não examinadas, número de perdas gestacionais e de éguas positivas entre os meses da estação de monta	277
<b>9.4. Análises referentes ao Experimento IV</b>	277
Análise 1. Tempo médio das gestações em cada diagnóstico	277
9.4.1. Análises referentes à tabela 15	278
Análise 2. Distribuição das éguas, por categoria reprodutiva e tratamento	278
9.4.2. Análises referentes à tabela 16	278
Análise 3. Distribuição das éguas por reprodutor e tratamento	278
9.4.3. Análises referentes à tabela 33	278
Análise 4. Idade média das éguas por tratamento	278
Análise 5. Número médio de cobrições por tratamento	278
Análise 6. Taxas de concepção de éguas cobertas por garanhões ou jumentos.	278
Análise 7. Taxas de perda gestacional de éguas cobertas por garanhões ou jumentos	279
Análise 8. Época da perda gestacional entre os tratamentos	279
9.4.4. Análises referentes à tabela 34	279
Análise 9. Número de éguas não examinadas, negativas ou positivas ao diagnóstico 1, entre os tratamentos	279
Análise 10. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 2, entre os tratamentos	279
Análise 11. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 3, entre os tratamentos	279
Análise 12. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 4, entre os tratamentos	279
Análise 13. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 5, entre os tratamentos	280
Análise 14. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 6, entre os tratamentos	280
Análise 15. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 7, entre os tratamentos	280
Análise 16. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 8, entre os tratamentos	280
Análise 17. Tempo médio ao diagnóstico 1, nos tratamentos	280



Análise 18. Tempo médio ao diagnóstico 2, nos tratamentos	280
Análise 18. Tempo médio ao diagnóstico 3, nos tratamentos	280
Análise 19. Tempo médio ao diagnóstico 4, nos tratamentos	281
Análise 20. Tempo médio ao diagnóstico 5, nos tratamentos	281
Análise 21. Tempo médio ao diagnóstico 6, nos tratamentos	281
Análise 22. Tempo médio ao diagnóstico 7, nos tratamentos	281
Análise 23. Tempo médio ao diagnóstico 8, nos tratamentos	281
9.4.5. Análises referentes à tabela 35	281
Análise 24. Distribuição dos ciclos por mês de concepção e tratamento	281
9.4.6. Análises referentes à tabela 36	282
Análise 25. Taxas de concepção entre os meses da estação de monta	282
Análise 26. Taxas de perda gestacional entre os meses da estação de monta	282
<b>9.5. Análises referentes ao Experimento V – Fertilidade e perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespecies</b>	282
9.5.1. Análises referentes à tabela 37	282
Análise 1. Efeito do jumento ou do garanhão sobre as taxas de gestação	282
Análise 2. Efeito do jumento ou do garanhão sobre as perdas gestacionais	282
9.5.2. Análises estatísticas referentes à tabela 38	283
Análise 3. Efeito da categoria reprodutiva das éguas cobertas com garanhões sobre as perdas gestacionais.	283
Análise 4. Efeito da categoria reprodutiva das éguas cobertas com jumentos sobre as perdas gestacionais	283
Análise 5. Efeito da categoria reprodutiva das éguas sobre as perdas gestacionais	283
Análise 6. Efeito da utilização de jumentos ou garanhões sobre as perdas gestacionais de éguas solteiras	283
Análise 7. Efeito da utilização de jumentos ou garanhões sobre as perdas gestacionais de éguas paridas	284
Análise 8. Efeito da utilização de jumentos ou garanhões sobre as perdas gestacionais de éguas no cio do potro	284
9.5.3. Análises referentes à tabela 39	284
Análise 9. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por garanhões	284
Análise 10. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	284
Análise 11. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (novembro x outubro)	285
Análise 12. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x outubro)	285
Análise 13. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (janeiro x outubro)	285
Análise 14. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x outubro)	285

Análise 15. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (março x outubro)	285
Análise 16. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x novembro)	286
Análise 17. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (janeiro x novembro)	286
Análise 18. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x novembro)	286
Análise 19. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (março x novembro)	286
Análise 20. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x janeiro)	286
Análise 21. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x fevereiro)	287
Análise 22. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x março)	287
Análise 23. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x janeiro)	287
Análise 24. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (janeiro x março)	287
Análise 25. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x março)	287
Análise 26. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões	288
Análise 27. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (novembro x outubro)	288
Análise 28. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (dezembro x outubro)	288
Análise 29. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (janeiro x outubro)	288
Análise 30. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (fevereiro x outubro)	288
Análise 31. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (março x outubro)	289
Análise 32. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (dezembro x novembro)	289
Análise 33. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (janeiro x novembro)	289
Análise 34. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (fevereiro x novembro)	289
Análise 35. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e gananhões (março x novembro)	289

Análise 36. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x janeiro)	290
Análise 37. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x fevereiro)	290
Análise 38. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x março)	290
Análise 39. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (fevereiro x janeiro)	290
Análise 40. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (janeiro x março)	290
Análise 41. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (fevereiro x março)	291
Análise 42. Efeito da cobertura com jumento ou garanhão no mês de Outubro	291
Análise 43. Efeito da cobertura com jumento ou garanhão no mês de Novembro	291
Análise 44. Efeito da cobertura com jumento ou garanhão no mês de Dezembro	291
Análise 45. Efeito da cobertura com jumento ou garanhão no mês de Janeiro	291
Análise 46. Efeito da cobertura com jumento ou garanhão no mês de Fevereiro	292
Análise 47. Efeito da cobertura com jumento ou garanhão no mês de Março.	292
9.5.4. Análises referentes à tabela 40	292
Análise 48. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por garanhões	292
Análise 49. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	292
Análise 50. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	292
Análise 51. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	293
Análise 52. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	293
Análise 53. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões	293
Análise 54. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões	293
Análise 55. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões	293
Análise 56. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões	294
Análise 57. Efeito da cobertura no bimestre Outubro/Novembro sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas com garanhões e jumentos	294
Análise 58. Efeito da cobertura no bimestre Dezembro/Janeiro sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas com garanhões e jumentos	294

Análise 59. Efeito da cobertura no bimestre Fevereiro/Março sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas com ganhões e jumentos	294
Análise 60. Efeito do mês de cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	294
Análise 61. Efeito do mês de cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos	295
Análise 62. Efeito do mês de cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por ganhões	295
Análise 63. Efeito do mês de cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por ganhões	295
<b>9.6. Análises referentes à avaliação da duração da gestação</b>	295
Análise 1. Avaliação da duração da gestação de éguas	295
Análise 2. Avaliação da data de perda gestacional de éguas	295
Análise 3. Duração da gestação pelo sexo dos produtos	295
Análise 4. Duração da gestação pelo diluidor utilizado	296
Análise 5. Comparação da duração da gestação de éguas inseminadas	296
Análise 6. Avaliação da duração da gestação entre os tratamentos	296
Análise 7. Avaliação da duração da gestação, entre os tratamentos	296
Análise 8. Avaliação da duração da gestação, entre os tratamentos, utilizando o diluidor GGO	296
Análise 9. Avaliação da duração da gestação, entre os tratamentos, utilizando o diluidor LPDG	296
Análise 10. Comparação da duração da gestação, de acordo com o reprodutor utilizado.	297
Análise 11. Avaliação da duração média da gestação, entre os reprodutores	297
Análise 12. Avaliação da duração da gestação por reprodutor, excluindo-se o jumento 2	297
Análise 13. Avaliação da duração média da gestação por reprodutor, excluindo-se o jumento 2	297
Análise 14. Duração da gestação pela idade blocada	297
Análise 15. Data da perda gestacional	298
Análise 16. Duração da gestação pela idade agrupada	298
Análise 17. Avaliação da duração média da gestação pela idade agrupada	298
Análise 18. Avaliação das datas de perdas gestacionais pela idade agrupada	298
Análise 19. Avaliação das datas médias de perdas gestacionais pela idade blocada	298
Análise 20. Análise das perdas gestacionais segundo o sexo dos produtos	299

---

## FICHAS DE CONTROLE

---

<b>9.7 Ficha de controle reprodutivo individual de éguas (adaptado de Palhares, 1987), utilizada no Experimento II (Rossi, 2008)</b>	300
<b>9.8 Ficha de controle reprodutivo das éguas após a inseminação-ovulação (rufiação de retorno), utilizada no Experimento II (Palhares, 1989)</b>	301
<b>9.9 Ficha de controle do comportamento sexual do jumento, avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado e controle das inseminações, utilizadas no Experimento II (Rossi, 2008)</b>	302
<b>9.10 Ficha de Controle Reprodutivo Individual das Éguas Utilizadas nos Experimento III e IV (Palhares, 1989)</b>	303
<b>9.11 Ficha individual de coleta de sêmen utilizada no Experimento III (Carvalho, 2011)</b>	304

## RESUMO

Pretendeu-se com a presente dissertação estudar diferentes aspectos da gestação de éguas submetidas à cruzamentos interespecies (jumento vs égua), a saber: a)acompanhar o desenvolvimento da gestação durante o período embrionário (40 dias), utilizando-se de mensurações seriadas da vesícula pela ultrassonografia transretal (Experimento I); b) determinar a duração real da gestação de mueres pelo conhecimento da data de ovulação e do parto registrados sistematicamente (Experimento II); c)avaliar-se a proporção de produtos machos e fêmeas oriundos de cruzamentos interespecies (Experimento II); d)comparar o efeito de três diluidores, sendo um à base de leite (Experimentos II e III) e dois à base de gema de ovo (Experimentos II e III) sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado de asininos; e)estudar a eficiência reprodutiva e as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespecies através do acompanhamento sistemático das fêmeas por um período mínimo de 128 dias e máximo de 205 dias (Experimentos III e IV); f)acompanhar as éguas submetidas à cruzamentos interespecies até o parto, visando-se determinar o percentual de perdas gestacionais do 10º dia de gestação até o parto (Experimento II); g)avaliar o efeito do jumento e da categoria reprodutiva, idade e mês da concepção sobre a eficiência reprodutiva de éguas, incluindo as perdas gestacionais, embrionárias e fetais (Experimento II). Para isso, foram realizados cinco experimentos nas estações de monta 2007/2008 e 2010/2011, no município de Lagoa Dourada, Minas Gerais. No Experimento I, mensurou-se 167 vesículas embrionárias mueres, em altura e largura (mm), obtendo-se uma curva de crescimento dos 10 aos 37 dias de gestação ( $R^2=0,6875$ ), representada pela equação de regressão: Gestação (dias)=(0,1876xaltura) + (0,3780xlargura) + 5,3713. No Experimento II, avaliou-se o efeito de dois diluidores, à base de leite em pó desnatado-glicose (T1) ou glicina-gema de ovo (T2) sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco (EIIa) ou resfriado (EIIb), realizando-se, para tal, a coleta total do sêmen de cinco jumentos da raça Pêga. Após as coletas, o sêmen a fresco diluído foi utilizado dentro de 30 minutos da coleta, e o resfriado, estocado à 5°C por até 12 horas em contêiner especial. Para avaliação da fertilidade, foram utilizadas 67 (EIIa) e 141 (EIIb) éguas mestiças distribuídas uniformemente entre os tratamentos, após o agrupamento por idade e categoria reprodutiva. As inseminações foram realizadas às terças, quintas e sábados, após a detecção de um folículo dominante em um dos ovários, com diâmetro de 3,0-3,5 cm, até a ovulação. Observou-se que as taxas de concepção ao primeiro ciclo, concepção por ciclo e concepção total, não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos, assim como a duração da gestação e o sexo dos produtos. Já as taxas de perdas gestacionais, obtidas através das taxas de perdas e de perdas ajustadas, foram influenciadas ( $p<0,05$ ) pelos tratamentos, sendo em média de 33,09%. No Experimento III, avaliou-se o efeito de dois diluidores seminais, sendo um à base de leite em pó desnatado-glicose (T1) e outro de lactose-gema de ovo (T2) (EIIIa) e de duas concentrações espermáticas/dose inseminante, de  $400 \times 10^6$  (T3) ou  $800 \times 10^6$  (T4) de espermatozoides móveis (EIIIb) sobre a fertilidade e perdas gestacionais de éguas acompanhadas até, no mínimo, os 120 dias de gestação. Para isto, utilizou-se a coleta fracionada do sêmen de cinco jumentos da raça Pêga, resfriado à 5°C por até 24 horas em contêiner especial, após diluição nos dois diluidores mencionados anteriormente, para a inseminação de 44 (IIIa) e 59 (IIIb) éguas mestiças. As inseminações foram realizadas às segundas, quartas e sextas-feiras, após a detecção de um folículo dominante em um dos ovários, com diâmetro de 3,0-3,5 cm, até a ovulação. Observou-se, neste experimento, que as taxas de gestação foram influenciadas ( $p<0,05$ ) pelos tratamentos, sendo inferior ( $p<0,05$ ) quando da utilização do diluidor à base de lactose-gema de ovo (4,76% - T2) em relação às demais (56,52% - T1; 41,46% - T3; 47,37% - T4), que não diferiram ( $p<0,05$ ) entre si. A coleta

fracionada, reduzindo o percentual de plasma e conseqüentemente das proteínas presentes no mesmo, possibilitou que os 20% de gema de ovo no diluidor exercesse um efeito contraceptivo. O Experimento IV envolveu a monta natural controlada de 59 éguas mestiças com sete reprodutores asininos (T1) ou três reprodutores equinos (T2), sendo as fêmeas cobertas a partir da detecção de um folículo com 3,0-3,5 cm de diâmetro em um dos ovários, repetindo-se o procedimento a cada 48 horas até a ovulação. Embora o tipo de cruzamento não tenha exercido efeito ( $p>0,05$ ) sobre as taxas de gestação, observou-se maior percentual ( $p<0,05$ ) de perdas associadas aos cruzamentos intraespécies (28,57%), em relação aos interespécies (7,14%) quando as gestações foram acompanhadas por um período mínimo de 128 dias e máximo de 205 dias. Finalmente, no Experimento V, agrupou-se os dados de fertilidade e de perdas gestacionais das éguas utilizadas nos Experimentos II, III e IV, em um total de 384 ciclos, realizando-se a seguir uma metanálise, visando conhecer mais profundamente as características das perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies. A taxa de concepção/ciclo ou de perdas gestacionais não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os dois tipos de cruzamentos utilizados no período avaliado, não se observando também, efeito da categoria reprodutiva ( $p>0,05$ ) sobre elas. No entanto, no grupo de éguas submetido à cruzamentos interespécies, verificou-se efeito do mês e bimestre da ovulação sobre as taxas de perdas gestacionais, que foram superiores ( $p<0,05$ ) nos meses de janeiro, fevereiro e março (35,71%, 47,62% e 50%) e no bimestre fevereiro/março (47,92%). Pretende-se que a redução dos padrões de secreção do LH ao final da estação de monta responda pelas maiores taxas de perdas gestacionais observadas nas éguas concebendo ao seu final, notadamente no bimestre fevereiro/março.

**Palavras chave:** perdas gestacionais, cruzamentos intra e interespécies, sêmen resfriado, monta natural, vesícula embrionária.

## ABSTRACT

The main objective of the present dissertation was to study different aspects of pregnancy in mares subject to interespecific matings (mare x jackass), for that purpose, a) to follow the development of pregnancy during the mule embrionary period (40 days), using the measure of the embrionary vesicles through ultrasonography (Experiment I); b) to determine the actual time span of the mules pregnancy (Experiment II); c) to assess the ratio between sex products from mares bred to a jackass (Experiment II); d) to compare the effect of three semen extenders, being one milk based and the other two egg yolk based (Experiments II and III) on mare's fertility, when inseminated with fresh or cooled jackass semen; e) to study the reproductive efficiency and the rates of pregnancy loss in mares bred to horses or jackasses by monitoring females for a minimal period of 128 days reaching the maximum of 205 days (Experiment III and IV); f) to monitor the interespecific pregnancies until labor, to determine the percentage of pregnancy losses from the tenth day to delivery (Experiment II); g) to evaluate the jackass influence, the reproductive category of the mare, the mare's age and month of conception on the reproductive efficiency, including the embryonic and fetal losses (Experiment II). For this, five experiments were performed in the 2007/2008 and 2010/2011 breeding seasons in Lagoa Dourada, Minas Gerais. At experiment I 167 vesicles of mules embryos were measured, obtaining a growth curve from 10 to 37 days of pregnancy ( $R^2=0.6875$ ), represented by the regression equation: Pregnancy (days) = (0.1876 x height) + (0.3780 x width) + 5.3713. At experiment II were evaluated two extenders based on skim milk-glucose (T1) or egg yolk-glycine (T2) about mare's fertility inseminated with fresh (EIIa) or cooled semen at 5°C stored for 12 hours (EIIb) for which collection of total semen of five Pêga jackasses. In EIIa and EIIb, 67 and 141 mares were used, respectively, without a breed definition, being uniformly distributed in two groups. The mares were inseminated every Tuesday, Thursday and Saturday, once they presented one follicle of 3.0 to 3.5 cm of diameter until ovulation. Pregnancy was detected through rectal palpation, a regular use of teasers and ultrasonography made on a regular intervals of 14 days. The conception rates, length of gestation and sex of the products did not differ ( $p<0.05$ ) between the treatments. The rates of pregnancy loss were influenced ( $p<0.05$ ) by the treatments, and the average was 33.09%. At experiment III, the sperm rich semen fraction was diluted in skim milk-glucose (SMG) (T1) or egg yolk-lactose (EYL) (T2), cooled at 5°C using 22 mL as a total dose (EIIIa) or in two different concentrations (T3- 400 x 10<sup>6</sup>; T4- 800 x 10<sup>6</sup>) (EIIIb) in the same extender (SMG). Fertility was evaluated using 44 (EIIIa) and 59 (EIIIb) mares inseminated with stored semen for 12 to 24 hours. The mares were inseminated every Monday, Wednesday and Friday, since they had one follicle of 3.0 to 3.5 cm of diameter until the ovulation. The pregnancy was detected using rectal ultrasonography at least 12 days from ovulation. The conception rates using SMG doses were higher ( $p<0.05$ ) (56.52% - T1; 41.46% - T3; 47.37% - T4) than the one got from the use of EYL (T2 - 4.76%). At experiment IV, 59 mares were used, impregnated with donkey (T1) or horse (T2) semen by natural breeding, since they had one follicle of 3.0 to 3.5 cm of diameter, every 48 hours, until the ovulation. The conception rates did not differ ( $p<0.05$ ) between the treatments, although the rates of pregnancy loss were higher (28.57%) in mares bred to horses than for mares bred to jackasses (7.14%). The data of the experiments II, III e IV were grouped to perform a meta-analysis and evaluate the features of pregnancies of mares subject to interespecific matings. The reproductive category, conception rates and pregnancy loss rates did not differ ( $p<0.05$ ) between mares bred to horses or jackasses. However, in the group of mares subject to



interespecific matings, was observed ( $p<0.05$ ) effect of the month and bimester of conception on pregnancy loss rates, that were higher ( $p<0.05$ ) in January, February and March (35.71%, 47.62% e 50%) and in the bimester February/March (47.92%). The reduction of the LH secretion patterns, in the end of the breeding season, could respond for the greatest rates of pregnancy loss in mares conceiving at its end, mainly during February/march.

**Keywords:** pregnancy losses, intraespecific and interespecific matings, cooled semen, natural breeding, embrionary vesicle.

## 1. INTRODUÇÃO

Os equídeos possuem a habilidade de cruzamentos envolvendo os diferentes membros de sua espécie e, embora produzam crias viáveis, são usualmente inférteis. Os muares, resultantes do cruzamento de jumentos (*Equus asinus*) com éguas (*Equus caballus*), são animais rústicos e extremamente resistentes, sendo utilizados eficientemente como animais de carga e tração (Dijkman, 1992). Nos últimos anos, o aumento da valorização de asininos e muares de marcha fez crescer o interesse na reprodução desses animais, incentivando inclusive a preservação de espécies em extinção (Serres *et al.*, 2002).

No Brasil, os principais propósitos da criação de equinos visam o trabalho diário nas atividades agropecuárias, uso militar, competições hípcas, esportes equestres (enduro, vaquejada, rodeio, adestramento, etc) e competições turfísticas (corridas de cavalo) (Vilela e Araújo, 2006). Sendo assim, diferentemente do que acontece na criação de outras espécies domésticas, o equino é selecionado, principalmente pelo desempenho e conformação física, e não com base na eficiência reprodutiva.

Entretanto, a viabilização da equideocultura moderna, requer avanços tecnológicos que incrementem a produtividade do rebanho, tornando-o mais competitivo tanto no cenário nacional quanto no internacional. Nesse contexto, a morte embrionária e fetal tem-se mostrado como principal fator de subfertilidade e de redução da eficiência reprodutiva em éguas, gerando grandes perdas econômicas aos criadores (Ball, 1993; Rocha *et al.* 2007).

Estimativas de perdas gestacionais em equídeos têm sido publicadas; entretanto, pouco se sabe sobre a sua etiologia. Registros encontrados na literatura indicam uma variação de 5 a 45% nos índices de perdas (Ball, 1993), refletindo

diferenças entre haras e dificuldades de diagnóstico. A ultrassonografia, utilizada mais intensamente em veterinária a partir da década de 80, tem aumentado a eficácia dos exames clínicos, possibilitando detectar vesículas embrionárias com 10 ou 11 dias pós-ovulação, e observar sinais precisos sobre a evolução e subsequente perda da prenhez (Palmer e Driancourt, 1980).

A literatura é escassa no que diz respeito à eficiência reprodutiva das éguas envolvidas na produção de muares. Neste sentido, Jordão *et al.* (1954) obtiveram taxa de parto de apenas 35,9% em éguas mantidas sob regime de monta a pasto com jumentos, ao longo de 14 estações de monta consecutivas. Após esse estudo, somente em 2005, Boeta e Zarco descreveram uma taxa de perda gestacional de 36,8% em éguas com gestações interespecies (jumento x égua), sendo essa frequência superior à observada para as gestações intraespecies (cavalo x égua). Uma possível causa para essa menor fertilidade é a limitada produção de gonadotrofina coriônica equina (eCG) pelas éguas que gestam embriões híbridos (Pigoniowa, 1963), devido ao desenvolvimento inadequado dos cálices endometriais associado a sua regressão prematura (Allen *et al.* 1987).

Diversos fatores podem afetar a taxa de mortalidade embrionária. Dentre eles, existem os fatores intrínsecos às éguas (idade, produção hormonal, ambiente uterino), os fatores extrínsecos (nutrição, manejo, temperatura ambiente, qualidade do sêmen, momento da inseminação) e os fatores ligados ao embrião (anormalidades genéticas e cromossômicas, fatores imunológicos) (Mckinnon, 1996).

Apesar dos consideráveis avanços na reprodução equina durante os últimos 20 anos, a morte embrionária e a perda fetal permanecem pouco compreendidas, principalmente no que diz respeito às gestações interespecies de muares.

## 2.OBJETIVOS

Objetivou-se com este trabalho:

- a) acompanhar o desenvolvimento da gestação durante o período embrionário (40 dias), utilizando-se de mensurações seriadas da vesícula pela ultrassonografia transretal;
- b) determinar a duração real da gestação de muare pelo conhecimento da data de ovulação e do parto registradas sistematicamente;
- c) avaliar-se a proporção de machos e fêmeas dos produtos oriundos de cruzamentos interespecies;
- d) comparar o efeito de três diluidores, sendo um à base de leite e dois à base de gema de ovo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado de asininos;
- e) estudar a eficiência reprodutiva e as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespecies através do acompanhamento sistemático das fêmeas por um período de no mínimo 120 dias;
- f) acompanhar as éguas submetidas à cruzamentos interespecies até o parto, visando-se determinar o percentual de perdas gestacionais do 10º dia de gestação até o parto;
- g) avaliar o efeito do jumento, da categoria reprodutiva, idade e mês da concepção sobre a eficiência reprodutiva de éguas, incluindo as perdas embrionárias e fetais.

## 3. REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1. Aspectos relativos à fisiologia reprodutiva da égua

#### 3.1.1. Estacionalidade reprodutiva

A égua é uma fêmea poliestral sazonal por possuir um período de atividade reprodutiva bem definido durante o ano, caracterizado

normalmente por ciclos estrais regulares durante os meses de primavera-verão e um período de inatividade ovariana durante o outono e inverno. A atividade reprodutiva nesta espécie é regulada por três fatores básicos: fotoperíodo, nutrição e temperatura. No entanto, o fator primário no controle da atividade ovariana sazonal é o número de horas luz/dia (Nishikawa, 1959). A temperatura ambiente e a condição nutricional podem modificar, mas nunca alterar o efeito básico da luz (Greenhoff e Kenney, 1975).

Assim como outras espécies sazonais, a égua possui um ritmo reprodutivo circanual que sincroniza seu padrão endógeno entre o inverno e o verão (Nagy *et al.* 2000), assegurando que o nascimento do produto ocorra em condições climáticas favoráveis e no momento do ano apropriado (Aljarrah, 2004).

O início da estação reprodutiva nesta espécie ocorre na primavera, associada com o aumento da luminosidade diária, da temperatura e da disponibilidade de alimento, proporcionando no hemisfério sul uma estação reprodutiva fisiológica no período de outubro a março, e no hemisfério norte, de abril a setembro. A duração máxima e a duração mínima de horas/luz variam de acordo com a latitude. Já fatores como temperatura, umidade e precipitação pluviométrica variam significativamente entre um ano e outro (Sharp e Ginther, 1975; Sharp *et al.* 1979; Sharp, 1988; Nagy *et al.*, 2000).

Foram estabelecidas relações diretas entre latitude e estacionalidade reprodutiva para a espécie equina, inferindo-se que quanto mais próximas do equador, menor o caráter estacional do comportamento reprodutivo das éguas. Segundo Neely *et al.* (1993), de 75% a 80% das éguas no hemisfério norte demonstram comportamento poliestral estacional, enquanto que nas demais regiões, especialmente no hemisfério sul, dependendo das condições climáticas

e nutricionais, éguas podem exibir comportamento poliestrual contínuo durante todo o ano (Neely *et al.* 1993; Fitzgerald e Mcmannus, 2000).

Saltiel *et al.* (1982) em estudo conduzido no México, onde todas as éguas localizavam-se entre as latitudes 15 e 22°N, com variação máxima do fotoperíodo de 2 horas e 4 minutos, observaram um padrão reprodutivo estacional bem definido em todas as éguas, com ovulações ocorrendo de abril a outubro. A ligeira variação sazonal no fotoperíodo aos 10°N na Venezuela (sendo o maior comprimento do dia de 12 horas e 46 minutos) também foi associada com um padrão reprodutivo sazonal (Zarco e Boeta, 2000).

Osborne (1966) analisando 6763 ovários de éguas abatidas em matadouro na Austrália, entre as latitudes de 23°S e 35°S, estimou o número de ovulações durante o ciclo estral e nas estações do ano, baseando-se na presença de corpos hemorrágicos. Observou-se neste trabalho, um ciclo anual bem evidente. A menor prevalência de ovulações foi demonstrada durante o inverno, no mês de agosto (18,5%) e o pico durante o verão, no mês de janeiro (91,5%). A autora observou, ainda, a ocorrência de uma quiescência ovariana relativa nos dois meses que sucederam o solstício de inverno, ou seja, em Julho e Agosto, e máxima atividade ovariana nos meses que se seguiram após o solstício de verão, Janeiro e Fevereiro.

No Brasil, Resende (1974) avaliou a genitália proveniente de 1029 éguas procedentes de várias regiões do estado de Minas Gerais, entre os paralelos 17° e 21° de latitude sul, e 47° e 41° de longitude leste e oeste, respectivamente. Os espécimes, coletados nas estações seca e chuvosa, bem definidas na região do Brasil central, foram classificados em três grupos de acordo com a fase do ciclo estral que representavam: proestro/estro, metaestro e diestro. A percentagem de animais nas fases de proestro/estro foi mais elevada ( $p < 0,01$ ) na

estação seca (14,9%) do que na chuvosa (12,3%). No entanto, percebeu-se maior número de ovulações ( $p < 0,05$ ) na estação chuvosa (31,1%) do que na seca (9,1%). É provável que certo número de éguas em cio, durante a seca, não apresentem ovulação, como observado por Van Rensburg e Van Heerden (1953).

Palhares (1989) analisando 1347 ciclos estrais, de 103 potras e 464 éguas da raça Mangalarga Marchador, em três estações reprodutivas consecutivas, observou claramente a influência do aumento da luminosidade sobre a magnitude do intervalo início do cio à ovulação ( $P < 0,05$ ). Os meses de janeiro, fevereiro e março, caracterizados por elevado número de horas luz/mês, demonstraram as menores médias; corroborando com os achados de Abel (1984) e Belling (1984), que observaram a ocorrência de estros mais curtos com o aumento da luminosidade.

Baixas taxas de concepção durante os meses de inverno e início da primavera foram relatadas por Van Niekerk (1967) e por Hutton e Meacham (1968). Valle *et al.* (2000) avaliaram o efeito do mês de ovulação sobre a eficiência reprodutiva de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e transportado a 14°C por 3,5 horas. Assim, obteve-se uma melhor taxa de concepção, ao primeiro ciclo, em dezembro/janeiro (70,0%), acompanhada por uma maior taxa de concepção/ciclo no mesmo período (63,5%), sendo que as melhores eficiências de prenhez foram observadas em outubro/novembro e em dezembro/janeiro (4,4; 6,0). Apesar das diferenças nas taxas de concepção, as características foliculares não diferiram entre o início, meio e fim da estação de monta.

Em estudo posterior, Valle *et al.* (2005) avaliaram a relação entre o tamanho do folículo à ovulação e a fertilidade dentro dos três bimestres da estação de monta no Brasil. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) no tamanho

do folículo ovulatório entre os ciclos que resultaram em gestações ou não. A fertilidade de ciclos apresentando folículos ovulatórios maiores ou menores que 40 mm também não diferiu ( $p>0,05$ ).

Apesar de alguns trabalhos terem descrito o efeito da estacionalidade reprodutiva sobre a fertilidade de éguas (Trum, 1950; Quinlan *et al.*, 1951; Osborne, 1968; Ginther, 1974; Resende, 1974; Palhares, 1989; Witte, 1989; Valle *et al.*, 2005), poucos buscaram estudar seu efeito sobre as taxas de perdas gestacionais. Assim, Moberg (1968) observou maior incidência de perdas em éguas cobertas no início da estação de monta em relação ao seu final. Segundo o autor, esse fato pode ocorrer devido à influência da luminosidade e temperatura sobre a sobrevivência embrionária, já que as condições nutricionais do experimento foram controladas.

Scherbarth (1980), citado por Ball (1993) observou maior taxa de perdas embrionárias e fetais no início da estação de monta (7,7%), em relação ao seu final (2,7%).

### 3.1.1.1. Estação anovulatória

O período que vai da última ovulação em uma dada estação de monta até a primeira ovulação da próxima estação corresponde à estação anovulatória, que na espécie equina é dividida em três fases: a transição de outono, correspondendo ao período inicial de declínio da atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário; o anestro profundo, correspondendo ao período invernal onde há mínima atividade do eixo; e a transição de primavera, um período de recrudescência reprodutiva, que precede a estação de monta fisiológica (Nagy *et al.*, 2000).

A transição entre a estação ovulatória e a anovulatória envolve mudanças graduais de comportamento, perfil hormonal e dinâmica

folicular. Durante o outono e inverno, o decréscimo do fotoperíodo suprime a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), um efeito mediado, pelo menos em parte, por mudanças na secreção de melatonina pela glândula pineal (Ginther, 1992). Baixas concentrações de GnRH resultam em decréscimo da secreção de gonadotrofinas, que por sua vez causa redução da foliculogênese e consequente anovulação durante este período do ano. Johnson (1987) ao infundir GnRH de forma pulsátil em éguas em anestro não submetidas a estímulo luminoso, observou desenvolvimento folicular com ocorrência de ovulação.

A secreção do hormônio folículo estimulante (FSH) é regulada pela interação entre a estação do ano e os ovários (Ginther, 1992). Durante a estação anovulatória, as concentrações circulantes de FSH são inibidas pelo fotoperíodo curto, ao passo que na estação ovulatória, o aumento do número de horas luz/dia estimula a liberação de FSH e os ovários, sendo que estes, através da produção de inibina e estradiol, inibem ritmicamente a liberação deste hormônio.

A produção folicular de estradiol e inibina é baixa durante a estação anovulatória, elevando-se somente ao final do período transicional, associado ao aumento gradual da atividade folicular (Davis e Sharp, 1991; Donadeu e Ginther, 2002). As altas concentrações plasmáticas de inibina produzidas a partir das ondas foliculares no período de transição, não resultam em supressão da liberação de FSH, refletindo possivelmente o efeito do fotoperíodo na liberação do hormônio (Donadeu e Ginther, 2003).

As concentrações circulantes do hormônio luteinizante (LH) são baixas durante a estação anovulatória, elevando-se poucos dias antes da primeira ovulação da estação reprodutiva (Ginther, 1992). Um pequeno aumento nas concentrações séricas e na frequência de liberação ocorre ao longo da

segunda metade deste período, respondendo talvez, pelo maior crescimento folicular durante a fase de transição, na ausência de alterações nas concentrações circulantes de FSH (Alexander e Irvine, 1991; Donadeu e Ginther, 2002). Sharp *et al.* (1991) concluíram que os grandes folículos do final da estação anovulatória estão envolvidos no aumento das concentrações circulantes de LH antes da primeira ovulação da estação, através do aumento da produção de estradiol.

Na ausência de LH não ocorre maturação folicular nem ovulação (Watson *et al.*, 2004). Sendo assim, na estação anovulatória éguas geralmente não demonstram sinais de estro, apresentam ovários pequenos e lisos, com folículos de diâmetro inferior a 20 mm e mantém concentrações de progesterona inferiores a 1 ng/ml (Freedman *et al.*, 1979; Nagy *et al.*, 2000; Donadeu e Watson, 2007).

### 3.1.1.2. Período transicional

O termo transição de primavera é usado para descrever os eventos foliculares que culminam com o início da estação ovulatória (Ginther *et al.*, 2004). O diâmetro do maior folículo aumenta gradualmente com o aumento da duração do dia (Ginther, 1979; Carnevale *et al.*, 1997), sendo um indicador conveniente da condição reprodutiva da égua durante a última metade da estação anovulatória.

Na transição de primavera inicia-se um longo período de crescimento folicular antes da ovulação (Sharp e Davies, 1993). Nesta fase, as concentrações de FSH flutuam, embora o LH permaneça baixo até pouco antes da primeira ovulação (Hines *et al.*, 1991). A liberação de LH é estimulada pela elevação das concentrações de GnRH junto com a competência esteroidogênica dos folículos, o que resulta em aumento das concentrações de estradiol (Sharp e Davies,

1993). Esse aumento estimula cada vez mais a secreção de LH, até que ocorra uma concentração suficiente, por um período de tempo mínimo, para provocar a ovulação.

Apesar do período de transição de outono no ciclo reprodutivo anual ter definição menos clara, ele pode ser entendido como o período entre a atividade reprodutiva plena e o anestro (Sharp e Davis, 1993). Durante este período observa-se a presença de crescimento folicular sem ocorrência de ovulação. A transição para o anestro é marcada por flutuações nas concentrações circulantes de (FSH), embora o pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH) esteja ausente, respondendo pela ausência de ovulação (Ginther, 1992). Este período transicional é menos compreendido devido à escassez de estudos a respeito deste momento do ciclo reprodutivo anual, associado a dificuldade de se estudar os fenômenos envolvidos neste evento, uma vez que da transição de outono para o anestro parece haver um controle menos rígido que o observado da transição de primavera para a ciclicidade reprodutiva.

Após o solstício de inverno, Osborne (1968) descreveu a atividade ovariana como hesitante e incerta, com irregularidades no ritmo estro-diestro, anestro persistente, estro anovulatório e impossibilidade de predição da progressão folicular.

### 3.1.1.3. Controle neuroendócrino da estacionalidade reprodutiva

#### 3.1.1.3.1. Melatonina

O fotoperíodo é o fator ambiental primário usado para regular o ciclo estral da égua, modulando a atividade reprodutiva via glândula pineal, por meio da melatonina, que regula a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (Ginther, 1992).

A via pela qual o estímulo luminoso alcança a glândula pineal começa na retina, que é o

fotorreceptor primário do sistema circadiano nos mamíferos. A informação nervosa produzida na retina é conduzida por fibras especializadas que passam diretamente ao núcleo supraquiasmático do hipotálamo, através do trato nervoso retino-hipotalâmico (Kilmer *et al.*, 1982; Sharp, 1988; Donadeu e Watson, 2007). Do núcleo supraquiasmático, os impulsos nervosos que levam a informação luminosa chegam ao gânglio cervical superior, de onde saem as fibras pós-ganglionares sinápticas noradrenérgicas, que fazem sinapse com os pinealócitos, células da glândula pineal encarregadas da produção de melatonina (Donadeu e Watson, 2007).

A norepinefrina secretada pelos neurônios sinápticos pós-ganglionares do gânglio cervical superior estimula a produção de N-acetiltransferase, a qual converte a serotonina a N-acetil-serotonina e finalmente à melatonina. As concentrações plasmáticas diárias de melatonina estão mais elevadas no outono e inverno, sendo a atividade da hydroxyindol-O-methyltransferase (HIOMT), uma das principais enzimas envolvidas na síntese de melatonina, máxima durante a estação anovulatória, após o que decresce significativamente dois a três meses antes do início da estação reprodutiva fisiológica (Wesson *et al.*, 1979).

A duração da secreção diária de melatonina está diretamente relacionada à duração do fotoperíodo. A secreção da melatonina é aumentada no início da fase escura, e decresce rapidamente ao final da noite. Quando o comprimento do dia é curto (inverno), a melatonina liberada pela glândula pineal suprime a síntese e liberação de GnRH. Contudo, no verão, com o aumento do número de horas luz/dia, a secreção de melatonina é menor e sua influência inibitória sobre a reprodução é removida (Grubbaugh *et al.*, 1982; Aljarrah, 2004).

Apesar de o efeito do fotoperíodo estar bem esclarecido em equinos, o sítio de atuação da melatonina não tem sido extensivamente estudado. Estudos envolvendo outras espécies demonstraram que a melatonina não influencia a secreção de GnRH diretamente, podendo atuar através de uma complexa rede neuroendócrina (Malpaux *et al.*, 1999). Segundo Gerlach e Aurich (2000) a melatonina influencia a liberação de GnRH em pontos diferentes do cérebro, podendo ser encontrada, segundo o modelo estudado, próxima da área mediobasal do hipotálamo em carneiros, na área supraquiasmática em hamsters e equinos e na porção da pars tuberalis em cavalos e jumentos.

#### 3.1.1.3.2. Neurotransmissores

Além da melatonina, uma complexa cadeia de interneurônios, que envolvem diferentes neurotransmissores no hipotálamo, também atua na inibição da secreção de GnRH durante o anestro fisiológico dos equinos. Esses sistemas neuronais mediam o efeito de fatores internos e externos, tais como o ritmo endógeno, o fotoperíodo, a nutrição e a temperatura, atuando talvez por caminhos independentes uns dos outros (Nagy *et al.*, 2000).

Neurotransmissores como os opioides e as catecolaminas, além de aminoácidos excitatórios, como a serotonina e hormônios tireoidianos como o T3 e T4, também estão envolvidos na regulação das mudanças no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Nagy *et al.*, 2000).

#### - Opioides

Alguns estudos envolvendo os peptídeos opioides endógenos (POEs) (Smith e Jennes, 2001) determinaram que sua ação ocorre, primariamente, no sistema nervoso central

por meio da sensibilização dos receptores  $\mu$ -,  $\delta$ - e  $\kappa$ -opioide, nas áreas pré-óptica e hipotalâmica. Tais peptídeos transmitem as informações do ambiente esteroideal aos neurônios GnRH, através da inibição de interneurônios (Cosgrove *et al.*, 1993; Smith e Jennes, 2001), modulando, assim, a liberação de LH em fêmeas cíclicas (Aurich *et al.*, 1996a). Mudanças envolvendo os hormônios esteroides gonadais regulam a ação inibitória dos POEs sobre a liberação de gonadotrofinas. Assim, é preciso que haja ação prolongada do estrógeno, pois a progesterona sozinha não é suficiente para ativar a regulação da secreção de LH, através do sistema opioide em éguas, durante a estação de monta (Aurich *et al.*, 1996a).

Em ratos, o estrógeno induz a manifestação de receptores de progesterona nos neurônios produtores de opioides endógenos, inibindo a liberação de GnRH. Esses neurônios são expostos ao estrógeno antes de serem ativados pela progesterona. Este mecanismo é semelhante em equinos e pode tentar explicar o mecanismo pelo qual a progesterona, por si só, não influencia a regulação da liberação de LH através dos POEs, mas modula a atividade dos opioides em animais que foram primariamente expostos ao estradiol (Aurich *et al.*, 1996b).

Apesar de não haver um consenso sobre a atuação dos POEs durante a estação não-reprodutiva dos animais sazonais, pode-se afirmar que em equinos ocorre inibição da secreção de LH mediada pelos peptídeos opioides endógenos. Estudo conduzido fora da estação reprodutiva demonstrou que, após injeções de naloxone (antagonista de opioides), as éguas responderam com aumento imediato da concentração plasmática de LH. Este mecanismo pode contribuir para o decréscimo na concentração de gonadotrofinas, durante o anestro sazonal (Aurich *et al.*, 1996a). Neste período, a inibição do LH, por meio dos peptídeos opioides endógenos, é maior porque as éguas apresentam certo grau de

atividade ovariana, com prolongada influência das baixas concentrações de estrógeno (Aurich *et al.*, 1996a; Nagy *et al.*, 2000).

#### - Catecolaminas

Neurônios produtores de catecolaminas também têm sido relacionados com a supressão sazonal da secreção de GnRH (Nagy *et al.*, 2000). A xilazina, um agonista  $\alpha$ -adrenérgico, eleva a pulsatilidade tanto do FSH quanto do LH em éguas no período anovulatório. Também foi demonstrada ausência de resposta à xilazina em éguas cíclicas ou expostas a longos períodos de luz, indicando que a atividade inibitória do sistema catecolaminérgico é reduzida com a chegada da estação reprodutiva fisiológica (Fitzgerald e Mellbye, 1988).

As concentrações de dopamina no fluido cérebro espinhal equino elevam-se durante o período anovulatório (Melrose *et al.*, 1990), tendo sido observado que a administração de antagonistas dopaminérgicos promove atividade ovariana durante o período de transição de primavera, embora não apresentem efeito durante o anestro profundo (Brendemuehl e Cross, 2000; Donadeu e Thompson, 2002). Apesar de existirem receptores de dopamina do tipo 2 no cérebro de éguas, trabalhos utilizando domperidona (antagonista dopaminérgico que não ultrapassa a barreira hematoencefálica) demonstraram que a dopamina pode atuar diretamente no ovário, ligando-se aos receptores tipo 2 do córtex ovariano, presentes nas células da granulosa ou da teca (King *et al.*, 2005).

Outro mecanismo pelo qual as mudanças na secreção de dopamina podem afetar a atividade folicular é através da prolactina, que é um hormônio hipofisário regulado negativamente pela dopamina (Nagy *et al.*, 2000). Em equinos, as



concentrações circulantes de prolactina elevam-se naturalmente na primavera (Johnson, 1987), provavelmente em resposta à uma redução do tônus dopaminérgico e ao incremento do número de horas/luz (Melrose *et al.*, 1990), e estão relacionadas à mudanças fisiológicas sazonais, como a ocorrência de queda de pêlo nos animais (Donadeu e Thompson, 2002).

Thompson *et al.*, (1987) administraram prolactina recombinante suína à éguas em anestro sazonal e observaram nestes animais a indução da ovulação ou luteinização, associada à pouca ou nenhuma mudança nas concentrações gonadotróficas. Em roedores, receptores de prolactina estão envolvidos no aumento da expressão de receptores gonadotróficos durante o período de recrudescência reprodutiva sazonal (Bex *et al.*, 1978). Em ovelhas foram localizados receptores para melatonina em células dopaminérgicas do hipotálamo médiobasal, sugerindo-se que a ativação destes neurônios inibe as células produtoras de GnRH (Malpoux *et al.*, 1996).

Esses achados sugerem que a dopamina, assim como outros neurotransmissores, exerce inibição tônica no controle hipotalâmico da ciclicidade sazonal na égua. É possível que o antagonista dopaminérgico exerça seu efeito sobre a atividade ovariana, aumentando a responsividade do ovário às gonadotrofinas circulantes, por meio do aumento dos receptores de LH e FSH, induzidos pela prolactina (Aljarrah, 2004).

### 3.1.2. Ciclo estral

O ciclo estral é definido como o período entre duas ovulações subsequentes, acompanhadas por estro e/ou por concentrações plasmáticas de progesterona abaixo de 1 ng/ml (Hughes *et al.*, 1975), podendo ser dividido em fase folicular e luteal (Bain, 1957; Hughes *et al.*, 1975; Blanchard *et al.*, 1998). A duração média de

um ciclo estral equino varia de 19 a 22 dias. O estro (fase folicular ou estrogênica) varia de 5 a 7 dias e o diestro (fase lútea ou progesterônica) de 14 a 15 dias. Existe uma considerável variabilidade individual nessas médias (Daels e Hughes, 1993).

O estro é o período onde ocorre crescimento, seleção e maturação folicular, culminando com a ovulação, acompanhada por rápido decréscimo das concentrações plasmáticas de estrógeno. Nesta fase, a égua está sexualmente receptiva ao garanhão. A ovulação, evento onde ocorre a liberação do oócito, acontece aproximadamente 24 a 48 horas antes do fim do estro (Daels e Hughes, 1993). A duração da fase folicular é primariamente influenciada pela estação, embora possa também sofrer variações individuais ou raciais. A duração do estro decresce com o avanço da estação reprodutiva, sendo que a sua menor duração coincide com o auge do verão, época na qual os dias são mais longos, o fotoperíodo é maior e a foliculogênese é acelerada (Daels e Hughes, 1993; Malinowsky *et al.*, 2002).

Na fase lútea, a égua não é receptiva ao garanhão e apresenta o ambiente uterino em condições adequadas para permitir o desenvolvimento embrionário. Após a ovulação ocorre luteinização total das células da granulosa e da teca, formando assim o corpo lúteo, o qual sintetiza e secreta progesterona (Ginther, 1979; Murrell, 2003). O fim da fase lútea é marcado pela regressão do corpo lúteo (luteólise), 14 a 15 dias após a ovulação, nos casos em que não há gestação, sendo que poucos dias depois inicia-se um novo estro.

A regularidade do ciclo estral é determinada pelo balanço dos hormônios produzidos pela glândula pineal, hipotálamo, hipófise, ovários e endométrio. O hipotálamo, fundamental no controle reprodutivo, produz o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), secretado no sistema porta-hipotalâmico-hipofisário. Este hormônio estimula a síntese e liberação

das gonadotrofinas, compreendidas pelo hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH), responsáveis pela maturação folicular, produção de estrógeno, ovulação e luteinização do corpo lúteo (Aljarrah, 2004).

### 3.1.2.1. Dinâmica folicular ovariana

Na espécie equina (Ginther *et al.*, 2004, 2005), assim como na mulher, o ciclo estral é caracterizado pelo desenvolvimento de ondas de crescimento folicular ovariano (Hughes *et al.*, 1972a; Sirois *et al.*, 1990; Bergfelt e Ginther, 1993a; Shirazi *et al.*, 2002). O termo “onda folicular” compreende um conjunto de fenômenos que obedecem à seguinte sequência: emergência, divergência, dominância e ovulação ou atresia.

Inicialmente, uma única e maior onda folicular foi proposta para o ciclo estral equino. No entanto, percebeu-se a ocorrência de dois padrões típicos de crescimento folicular em éguas: ondas maiores, caracterizadas pelo desenvolvimento de folículos dominantes e subordinados, que iniciam-se normalmente na metade final do ciclo estral e terminam com a subsequente ovulação; e ondas menores, onde o maior folículo não atinge o diâmetro de um folículo dominante, podendo iniciar-se entre o final do ciclo estral e início do diestro (Dinger e Noiles, 1984; Gastal, 1999; Ginther, 2000).

#### 3.1.2.1.1. Emergência, divergência e dominância folicular

A emergência de uma onda folicular ovariana é estimulada pelo pico de hormônio folículo estimulante (FSH) (Dinger e Noiles, 1984; Bergfelt e Ginther, 1992, 1993a; Gastal, 1999) que, na espécie equina, é

responsável pelo recrutamento de folículos com diâmetro de, aproximadamente, 12 mm. Após a emergência, os folículos de uma onda entram em uma fase comum de crescimento, envolvendo 7 a 11 folículos em média (Ginther *et al.*, 2001), sendo que nesta etapa todos os folículos são potencialmente capazes de se tornarem dominantes (Gastal *et al.*, 2004). Durante esta fase, nenhum folículo exerce dominância sobre os demais, embora na maioria dos casos aquele de maior diâmetro se torna o folículo dominante da onda (Beg e Ginther, 2006).

Gastal *et al.* (2004) demonstraram que a capacidade para a dominância é similar entre os quatro maiores folículos no momento da divergência. Neste estudo, realizou-se ablação do maior folículo; dos dois maiores folículos; dos três maiores folículos; dos quatro maiores folículos; ou de nenhum folículo no início da divergência. O maior folículo remanescente se tornou dominante em 76% dos casos (n=34), não havendo diferenças entre os grupos experimentais. Estudos prévios, utilizando um modelo de ablação dos dois maiores folículos, demonstraram resultados similares (Gastal 1997, 1999a).

Quatro a cinco dias após a concentração plasmática de FSH ter atingido o seu valor máximo, os dois maiores folículos alcançam os diâmetros médios de 22 e 19 mm. Neste momento, os folículos iniciam a divergência do diâmetro, caracterizada pela seleção e crescimento contínuo do maior folículo, que será considerado como dominante, enquanto os folículos remanescentes, ou subordinados (Gastal, 1999), reduzem sua taxa de crescimento, inibidos pela produção cada vez maior de estradiol e inibina pelo folículo dominante (Ginther, 1992; Pierson, 1993).

A diferença de diâmetro, entre os dois maiores folículos, no início da divergência, equivale a um período de crescimento de aproximadamente 24 horas. Aparentemente, este é o momento para que o maior folículo estabeleça o processo de dominância, antes

que o segundo maior folículo alcance diâmetro similar. Neste momento, o futuro folículo dominante exerce papel primário na supressão da concentração circulante de FSH (Ginther, 2000; Ginther *et al.*, 2003).

O declínio das concentrações de FSH é necessário para o estabelecimento da divergência. A administração de FSH à éguas nesta fase possibilita o desenvolvimento de vários folículos dominantes (Squires *et al.*, 1986). No período compreendido entre a ocorrência do pico de FSH até o início da divergência, todos os folículos atuam para o decréscimo das concentrações deste hormônio (Donadeu e Ginther, 2001), através da produção de inibina e estradiol. Após essa fase, a inibina passa a ser produzida somente pelo folículo dominante (Ginther *et al.*, 2002), o qual é menos dependente de FSH. Contudo, a manutenção de uma concentração plasmática mínima deste hormônio é essencial para sua sobrevivência; sendo que a sua supressão, abaixo do nível basal, predispõe o folículo dominante à atresia (Mihm e Bleach, 2003).

Tanto o estradiol quanto a fração proteínica do fluido folicular são capazes de suprimir as concentrações circulantes de FSH (Miller *et al.*, 1979, 1981; Bergfelt e Ginther, 1985). As concentrações circulantes de estradiol começam a se elevar em média um dia antes da divergência (Gastal *et al.*, 1999a, 1999c; Bergfelt *et al.*, 2001), sendo que a ablação do maior folículo no início da divergência, previne um maior aumento das concentrações circulantes de estradiol, além de resultar em elevação do FSH (Gastal *et al.*, 1999a).

De maneira diferente, as concentrações circulatórias do hormônio luteinizante (LH) se elevam gradualmente durante o estro (McCue, 1996). O LH é necessário para a continuação do crescimento, maturação e ovulação do folículo dominante na égua. O futuro folículo dominante apresenta maior quantidade de receptores de LH nas células

da granulosa do que os demais folículos antes do início da divergência folicular (Ginther *et al.*, 2002), o que o torna extremamente sensível à pulsatilidade de LH no momento em que a dependência do FSH é superada (Macmillan *et al.*, 2003; Rawlings *et al.*, 2003).

Durante a divergência observa-se uma elevação transitória nas concentrações de LH, já como uma parte da onda ovulatória do hormônio (Gastal *et al.*, 1997; 1999a; 2000; Bergfelt *et al.*, 2001). Na espécie equina, a onda de LH persiste por 6 a 7 dias, atingindo sua máxima concentração um dia após a ovulação (Whitmore *et al.*, 1973). Após a divergência, quando o folículo equino atinge o estágio pré-ovulatório de  $\pm 40$  mm há aumento da concentração plasmática de LH desencadeando uma série de eventos que comprometem a integridade do tecido ovariano, levando à ovulação (Murdoch *et al.*, 1986).

#### 3.1.2.1.1.1. Fatores intrafoliculares envolvidos na divergência folicular

O processo de divergência folicular envolve uma série de fatores de ativação, dentre os quais são candidatos aqueles relacionados ao sistema IGF, esteroides, peptídeos como a inibina A e ativina A, receptores de gonadotrofinas, fatores angiogênicos e outros fatores intrafoliculares (Armstrong e Webb, 1997; Ireland *et al.*, 2004). Entretanto, somente o IGF-1 e seu sistema associado, o estradiol e receptores de LH estão temporalmente e funcionalmente implicados no processo de divergência folicular (Beg e Ginther, 2006).

#### - Estradiol

Os folículos dominantes possuem grande capacidade para produção de estradiol nas espécies equina e bovina (Ginther *et al.*,

2003a). Não foram demonstrados efeitos diretos do estradiol sobre o crescimento folicular na espécie equina. Em vacas, observou-se *in vitro* que o estradiol promove o desenvolvimento de folículos pré-antrais e estimula a esteroidogênese nas células da teca e da granulosa; em ratas, estimula o crescimento folicular *in vivo* e *in vitro* e inibe a apoptose das células da granulosa, além de aumentar a sensibilidade destas células ao FSH e LH, pelo aumento da expressão de seus receptores (Rosenfeld *et al.*, 2001). Na espécie suína e ovina, o estradiol promove a síntese de IGF-1 (Spice e Chamberlain, 2000).

Aproximadamente um dia antes do início da divergência, quando os folículos apresentam tamanho médio de 18 mm, as concentrações de estradiol no fluido folicular começam a elevar-se diferencialmente no futuro folículo dominante (Gastal *et al.*, 1999c; Donadeu e Ginther, 2002). Sendo assim, as concentrações séricas de estradiol parecem não contribuir para a redução do FSH até o dia anterior à divergência folicular (Gastal *et al.*, 1999b). A eliminação do maior folículo, quando do início esperado da seleção, impede o aumento contínuo do estradiol e resulta em um aumento do FSH, o que não ocorre quando o segundo maior folículo é eliminado. Tanto a produção de estradiol, quanto a de inibina, é bloqueada quando elimina-se o maior folículo, sendo que a redução dos dois hormônios poderia contar para o aumento resultante dos padrões de FSH (Gastal *et al.*, 1999a). Resultados similares foram obtidos em outro estudo, utilizando um modelo experimental envolvendo os quatro maiores folículos da onda (Ginther *et al.*, 2002).

As atividades autócrinas e parácrinas do estradiol nas células da granulosa incluem o aumento da atividade da enzima aromatase, maior expressão de receptores de LH, e aumento da sensibilidade às gonadotrofinas, sendo todas essas funções relevantes no mecanismo de divergência folicular. No entanto, os resultados encontrados nos

estudos conduzidos por Gastal *et al.*, (1999a) e Ginther *et al.*, (2002) sugeriram que o aumento das concentrações de estradiol, tanto sistemicamente quanto a nível local, não constitui pré-requisito para o início da divergência em éguas, apesar de o estradiol elevar-se diferencialmente no futuro folículo dominante, antes do início da divergência (Beg e Ginther, 2006).

### - Andrógenos e Progestágenos

Andrógenos e progestágenos são substratos para a síntese de estradiol. Assim como em outras espécies, na égua, os andrógenos são produzidos nas células da teca e depois aromatizados nas células da granulosa (Fortune e Quirk, 1988). A progesterona por sua vez, é um esteroide intermediário na produção de estradiol.

Donadeu e Ginther, (2002) demonstraram que em éguas as concentrações de andrógenos, nos folículos subordinados, foram superiores às concentrações observadas no folículo dominante, enquanto a progesterona elevou-se no futuro folículo dominante no início da divergência. De maneira oposta, observou-se em novilhas um aumento de andrógenos no maior folículo. As maiores concentrações de andrógenos observadas nos folículos subordinados na espécie equina, resultam, provavelmente da ausência de atividade da aromatase nesses folículos (Ginther *et al.*, 2004).

### - Sistema IGF

Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) são polipeptídios secretados pelo fígado e por vários tecidos em resposta ao estímulo do Hormônio do Crescimento (GH). Regulam a proliferação e a diferenciação de vários tipos celulares e têm efeitos metabólicos similares aos da

insulina. Entretanto, diferentemente da insulina, a maioria dos tecidos os produzem. Os IGFs têm a capacidade de atuar por via endócrina, assim como por mecanismos autócrino e/ou parácrino (Hafez e Hafez, 2004).

O sistema IGF consiste do IGF-1 e IGF-2, proteínas ligadoras de IGF (IGFBP's) e proteases das IGFBP's (Ginther et al., 2001). Foram detectados 4 ou 5 IGFBP's (BP-2, 3, 4 e 5 e um complexo de alto peso molecular) no fluido folicular de éguas. No entanto, somente a IGFBP-2 tem sido estudada em relação à divergência folicular em equinos (Donadeu e Ginther, 2002). As IGFBP's regulam a biodisponibilidade de IGF por meio da ligação aos fatores, tornando-os indisponíveis para seus receptores, exercendo, portanto, função inibitória sobre o crescimento e diferenciação folicular induzido por gonadotrofinas (Donadeu e Ginther, 2002).

O IGF-1 estimula a proliferação das células da granulosa e, sinergicamente com as gonadotrofinas, promove a sua diferenciação (Spicer e Echterkamp, 1995). Na espécie bovina, estudos *in vitro* demonstraram que o IGF-1 aumenta a proliferação das células da granulosa e a produção de estradiol (Glister et al., 2001); aumenta a sensibilidade das células da granulosa ao FSH (Monget e Monniaux, 1995; Spicer e Echterkamp, 1995); eleva a secreção de inibina-A, ativina-A e folistatina pelas células da granulosa (Glister et al., 2001), além de estimular a síntese de andrógenos induzida pelo LH nas células da teca (Stewart et al., 1995).

A dependência de menores concentrações de FSH para a manutenção do crescimento do folículo dominante coincide com a elevação da secreção de estradiol e de fatores de crescimento locais (Ginther, 2000), bem como por menores concentrações de proteínas ligadoras de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFBP-2, 4 e 5). As baixas concentrações de IGFBP's

disponibilizam maiores concentrações intrafoliculares de IGF-1 (Granger et al., 1989), induzindo à expressão dos receptores de LH e regulando a atividade da aromatase (Fortune, 2003), um evento fundamental para o estabelecimento da dominância folicular.

A ablação do maior folículo ovariano no período inicial de divergência induz, no segundo maior folículo, o aumento das concentrações de IGF-1 livre, 12 horas antes do início da divergência entre o segundo e o terceiro maior folículo restante (Ginther et al., 2002). As concentrações de estradiol, inibina-A e ativina-A também se elevam no novo folículo dominante, mas somente após o início da divergência folicular, indicando um papel chave do sistema IGF-1 na iniciação do mecanismo de seleção folicular na espécie equina.

Associado ao IGF, os folículos dominantes apresentam aumento da concentração da proteína plasmática associada à prenhez (PAPP-A), uma enzima que promove rápida mudança nas concentrações intrafoliculares de IGFBP, ao degradar dois subtipos de proteínas ligadoras (IGFBP-4 e 5). Desta forma, induzem o aumento dos níveis intrafoliculares de IGF-1 livre (Fortune et al., 2004). Durante o crescimento folicular as concentrações de IGF-1 e de IGFBP-3 permanecem relativamente constantes. Entretanto, os níveis de IGFBP-2, 4 e 5 variam bastante, indicando que a biodisponibilidade de IGF-1 no folículo é ditada por mudanças nos níveis das IGFBP's (Vogel et al., 2004).

Ginther et al. (2004a) ao estudarem o papel do IGF na seleção folicular, injetou IGFBP-3 no maior folículo, no dia esperado da divergência, analisando o fluido folicular 24 horas depois. A maior parte dos folículos tratados com IGFBP-3 interrompeu o seu crescimento e regrediu, tornando-se o segundo maior folículo, o folículo dominante neste grupo. Além disso, observou-se decréscimo nas concentrações

de estradiol, IGF-1 livre, ativina A e inibina-A e elevação das concentrações de androstenediona no período de 24 horas após a aplicação da IGFBP-3. Concluiu-se que o sistema IGF-1 possui um papel crítico no mecanismo de seleção folicular e no desenvolvimento do folículo dominante na espécie equina (Ginther *et al.*, 2004).

A avaliação das mudanças temporais nas concentrações do estradiol, IGF, IGFBP e PAPP-A do fluido folicular, sugere que o aumento desta última proteína é a diferença bioquímica mais precocemente detectável, no futuro folículo dominante; sendo a seleção folicular resultante de uma série de mudanças que se iniciam com a expressão da PAPP-A (Fortune, 2003).

#### - Inibina

As células da granulosa dos folículos são a principal fonte de inibina e proteínas correlatas, que contribuem para a regulação endócrina do sistema reprodutivo. As inibinas são proteínas compreendendo duas subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ , interligadas por pontes de dissulfeto. Parece haver somente uma subunidade  $\alpha$  para a inibina, embora existam duas diferentes subunidades  $\beta$  chamadas de  $\beta A$  e  $\beta B$ . A combinação da subunidade  $\alpha$  com qualquer subunidade  $\beta$  produz uma inibina biologicamente ativa (inibina A ou inibina B) (McKinnon e Voss, 1993).

As inibinas desempenham um importante papel na regulação hormonal da foliculogênese ovariana durante o ciclo estral, atuando como sinalizadores químicos para a hipófise sobre o número de folículos em crescimento no ovário (Hafez e Hafez, 2004).

Biologicamente, a inibina atua na redução da síntese e secreção de FSH. Nesse sentido, estudos *in vitro* demonstraram que o efeito da inibina na secreção do FSH é relativamente lento, ao passo que seu efeito

sobre a síntese é rápido. Os autores concluíram que o mecanismo envolvido na redução da secreção de FSH pela inibina, se dá pela diminuição da sua síntese e, assim da quantidade de hormônio disponível para liberação (McKinnon e Voss, 1993).

A inibina A começa a elevar-se no futuro folículo dominante logo após o pico de FSH (Bergfelt *et al.*, 1991; Irvine *et al.*, 2000; Bergfelt *et al.*, 2001; Donadeu e Ginther, 2001) e permanece elevada após a divergência, contribuindo provavelmente para a redução contínua do FSH. As concentrações de inibina B não são alteradas antes do início da divergência (Ginther *et al.*, 2002b). A administração de soro antiinibina em éguas aumenta o FSH plasmático, o número de folículos grandes e o número de ovulações (Ginther, 2000; Ginther *et al.*, 2001).

Donadeu e Ginther (2002) demonstraram um aumento diferencial na concentração de inibina A no maior folículo, a partir do momento em que este alcançou um diâmetro de 16 a 19,9 mm. Essa maior concentração no folículo dominante, em relação ao segundo e terceiro maiores folículos, sugere que a inibina A pode ter uma função na iniciação da divergência e no subsequente crescimento diferencial do folículo dominante.

A redução experimental da concentração de LH durante a divergência folicular resultou em menor diâmetro do maior folículo pós-divergência, associado à menores concentrações de estradiol e inibina total, embora não atrasasse a ocorrência da divergência, baseando-se nos diâmetros inalterados do segundo maior folículo (Gastal *et al.*, 1999d; Bergfelt *et al.*, 2001). Esses achados indicam que a regulação da síntese de inibina e estradiol, depende pelo menos em parte do LH em éguas.

Estudos *in vitro* demonstraram que a inibina A aumenta a produção de andrógenos induzida pelo LH nas células da teca (Wrathal e Knight, 1995) e eleva a secreção

de estradiol induzida pelo FSH nas células da granulosa de ovinos (Campbell *et al.*, 1990). Sendo assim, as concentrações foliculares elevadas de inibina A podem assegurar que uma quantidade adequada de andrógeno esteja disponível, como substrato para produção de estradiol pelo folículo dominante em éguas (Gurgel *et al.*, 2008).

#### - Ativina e Folistatina

As ativinas são dímeros da subunidade  $\beta$  da inibina e, por isso, podem existir de três formas. A ativina A é um homodímero da subunidade  $\beta A$  da inibina, a ativina B é um homodímero da subunidade  $\beta B$ , sendo a ativina AB um heterodímero composto de uma subunidade  $\beta A$  e de uma  $\beta B$  da inibina. Cada um destes componentes tem atividade estimulante de FSH (Hafez e Hafez, 2004).

A folistatina é uma glicoproteína dimérica que age como proteína de ligação para ativinas e inibinas (Austin *et al.*, 2001). Atua inibindo a secreção de FSH, similarmente à inibina, e também ligando-se à ativina, neutralizando sua atividade biológica. Representa, portanto, um agente modulador da secreção de FSH (Hafez e Hafez, 2004).

A ativina induz à proliferação de células da granulosa, aumenta a expressão de receptores do FSH; aumenta a esteroidogênese das células da granulosa, aumenta a atividade da aromatase estimulada pela gonadotrofina e a produção de estradiol e, atrasa o início da luteinização e atresia (Beg e Ginther, 2006). Os efeitos inibitórios da ativina na secreção de andrógenos pelas células da teca são revertidos pela folistatina, já que esta tem um papel de proteína de ligação à ativina (Wrathal e Knight, 1995).

As proporções intrafoliculares de ativina: folistatina e ativina:inibina têm sido sugeridas como parâmetros potencialmente importantes na regulação da foliculogênese

(Glister *et al.*, 2001). A folistatina neutraliza a atividade da ativina A por meio da sua ligação, e a inibina A opõe-se às ações da ativina A. Por isso, uma proporção de ativina A: folistatina e ativina A: inibina A reflete a quantidade líquida de ativina ativa (ação da ativina) provavelmente disponível para a interação com seus receptores (Beg e Ginther, 2006).

Mais estudos precisam ser conduzidos para determinar se a ativina e a folistatina têm um papel nos processos de divergência e dominância folicular (Beg e Ginther, 2006).

#### - Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF)

O processo de divergência folicular está associado a um aumento diferencial do fluxo sanguíneo para os folículos dominantes (Ponchirolli, 2003). O aumento da vascularização proporciona ao folículo a vantagem de receber suprimento preferencial de fatores de crescimento, gonadotrofinas, precursores esteroides e outros nutrientes necessários para seu desenvolvimento contínuo (Beg e Ginther, 2006).

O principal estimulador da angiogênese é o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), sendo que as suas concentrações no fluido folicular, têm se mostrado aumentadas nos folículos dominantes de éguas. A vascularização reduzida dos folículos transicionais foi atribuída aos baixos níveis de VEGF, que proporcionam suporte limitado de gonadotrofinas, resultando em deficiências de desenvolvimento e funcionais (baixa capacidade esteroidogênica) nestes folículos (Donadeu e Watson, 2007).

O VEGF estimula a mitose de células endoteliais e aumenta a permeabilidade vascular e angiogênese em outras espécies (revisado por Redmer e Reynolds, 1996).

Adicionalmente, a produção de VEGF é aumentada em culturas de células da granulosa de vacas (Schams *et al.*, 2002) e macacas (Martinez-Chequer *et al.*, 2003), quando expostas ao IGF-1.

Maiores concentrações de VEGF no folículo dominante foram identificadas um dia após o início da divergência folicular (Ginther *et al.*, 2004c). Além disso, tem sido observada uma camada anecoica expandida dentro da parede do futuro folículo dominante, que tornou-se aparente um dia antes do início da divergência folicular em éguas, atribuída a um aumento da vascularização (Gastal *et al.*, 1999c). Acosta *et al.* (2004), utilizando Doppler colorido, estudaram a relação da vascularização folicular e o início da divergência, e demonstraram que a velocidade e o fluxo sanguíneo começaram a ser reduzidos na parede dos folículos subordinados, um a dois dias antes do início da divergência, o que não foi observado no futuro folículo dominante.

Entre os sinais que regulam a produção de VEGF, a baixa tensão de oxigênio tem sido relatada como um agente estimulador, enquanto altas tensões desse gás estão relacionadas à inibição de sua produção. Dentro do folículo, a tensão de oxigênio é baixa, principalmente em folículos grandes, sendo que os gases devem difundir-se a partir dos vasos presentes na camada de células da teca, até a membrana basal da camada da granulosa e acumular-se no líquido folicular (Ponchirulli, 2003).

### 3.2. Eficiência reprodutiva na égua

A reprodução é considerada uma função fisiológica elitista, por requerer o adequado funcionamento dos demais sistemas e funções biológicas para que possa acontecer normalmente. Sendo assim, quaisquer que sejam as origens dos distúrbios que afetem os demais sistemas corporais, em geral,

terão potenciais efeitos sobre a reprodução (Ricketts, 2005).

A competência reprodutiva de uma égua, manifestada pela produção de um potro viável ao ano, é de extrema importância para o manejo de um criatório de equinos, sendo de grande interesse para veterinários e criadores. A espécie equina possui menores índices de fertilidade quando comparada às demais espécies domésticas (Sullivan *et al.*, 1975; Ginther, 1992; Voss, 1993;), o que se deve em parte ao fato de que nessa espécie não há seleção para fertilidade (Merkt, 1986; Hughes, 1991).

#### 3.2.1. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na égua

##### 3.2.1.1. Efeito do método de acasalamento

Índices de fertilidade variando de 25% a 76% têm sido citados para a monta natural (Ginther, 1979; Allen, 1981; Belling, 1984), e de 25,2% a 85,7% para a inseminação artificial em equinos (Zivotkov, 1941; Cheng, 1965). Os dados variam de acordo com as condições da propriedade, estado nutricional dos animais, método de cobrição, bem como o manejo dos rebanhos (Palhares, 1989).

Segundo Vlachos (1961), após a II Guerra Mundial, a reposição do rebanho equídeo grego foi feita, principalmente, pela intensa utilização de garanhões e jumentos em inseminação artificial. Para o sêmen diluído em diluidor à base de gema de ovo-bicarbonato-glicose, estocado por períodos de até 99 horas, o autor relatou taxas de concepção superiores em 5% às obtidas com o uso da monta natural, que apresentou taxa de concepção de 35%. A partir desses dados, entre os anos de 1954 e 1959, 7231 inseminações apresentaram resultados similares. O diluidor de leite desnatado pasteurizado foi introduzido em 1959, quando obteve-se uma taxa de concepção de



33,9% (n=700) contra 26% (n=77) para a monta natural, e de 30% (n=1674) quando da utilização do diluidor de bicarbonato.

Nishikawa (1975) em estudo realizado entre 1961 e 1965, obteve uma taxa de concepção de 67,3% (n=407), ao utilizar inseminação artificial com sêmen diluído em diluidor CGH-27, e resfriado por 2-8 horas à 4°C, valor similar ao obtido com monta natural, no mesmo período.

Em um estudo conduzido por Voss e Pickett (1976), utilizando dados da Associação Americana dos Criadores de Árabe, observou-se uma taxa de concepção, percentagem de potros vivos e número de serviços/concepção, de 83,1%, 73,8% e 1,5, respectivamente, para 913 éguas consideradas normais servidas por inseminação artificial. Valores inferiores foram obtidos para 513 éguas na mesma condição, servidas por monta natural, quando obteve-se taxas de 74,5%, 68,7% e 1,6, respectivamente, para as mesmas características avaliadas anteriormente. Segundo os autores, os resultados apontam para índices de fertilidade superiores com a utilização da inseminação artificial.

Hughes e Loy (1970) encontraram índices de concepção de 67,4% (n=218) e 78,9% (n=199) quando da utilização da inseminação artificial e da monta natural, respectivamente. No entanto, segundo os autores, um maior número de éguas vazias, há várias estações de monta foram inseminadas, o que poderia justificar o melhor desempenho do grupo submetido à monta natural.

Já Belling (1985) não encontrou diferenças entre os regimes de monta natural e inseminação artificial, demonstrando taxas de concepção variando de 64% a 85%, e de 68,1% a 76,8%, para os dois métodos de acasalamento, respectivamente.

Em trabalho conduzido por Mattos *et al.* (1996), observou-se, com o uso da monta natural e inseminação artificial com sêmen a

fresco, taxas de gestação de 63,6% e 71,4%; de 52,9% e 92,8%; e de 71,7% e 79,2%, para éguas virgens, éguas falhadas e lactantes, respectivamente, encontrando-se diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as técnicas utilizadas, apenas na categoria de éguas falhadas. Possivelmente, as melhores condições higiênicas proporcionadas pela inseminação artificial tenham contribuído para os melhores índices nas fêmeas falhadas. Para as éguas no “cio do potro”, a taxa de gestação também foi superior quando do uso da inseminação, em relação à monta natural (79,2% e 54,5%, respectivamente).

Em Cuba, Díaz *et al.* (2009) registraram uma taxa de concepção de 32,08% em 134 éguas cobertas por monta natural e de 53,80% em éguas inseminadas com sêmen de jumentos, diluído em diluidor a base de leite. Quando da inseminação de jumentas, Rozas (2005) obtiveram taxas de concepção por ciclo de 25,66% (29/113) e 47,36% (18/38), durante duas estações de monta consecutivas.

Ao utilizarem 225 ciclos, durante três estações de monta consecutivas, Mattos e Cavalheiro (1988) obtiveram taxas de concepção por ciclo superiores, quando da utilização da inseminação artificial com sêmen a fresco (78%), em relação ao uso da monta natural (65,3%).

Acompanhando a difusão do uso do sêmen resfriado e congelado, estudos vêm sendo conduzidos no sentido de avaliarem o efeito do processamento sobre a qualidade do sêmen e consequentemente do embrião resultante. Assim, Moberg (1975) observou maior taxa de perda embrionária em éguas inseminadas com sêmen a fresco ou congelado, quando comparadas às éguas servidas por monta natural.

Ao trabalhar com 1206 éguas no período de 1984 a 1990, Darenius (1992) utilizou diferentes métodos de cobertura: inseminação artificial com sêmen a fresco, resfriado, congelado e monta natural,

observando taxas de parto de 61,1%, 63,7%, 43,5% e 59,9%, respectivamente, para os quatro métodos estudados. Enfatiza-se o pior desempenho das éguas submetidas à inseminações com o uso do sêmen congelado.

Souza *et al.*, (2001) observaram uma correlação ( $x^2 = 4,129$ ,  $p = 0,042$ ) entre o método de acasalamento e a taxa de morte embrionária. Assim, ao avaliarem 928 gestações de 518 éguas da raça Mangalarga, os autores observaram uma taxa de morte embrionária de 13,74% para as gestações resultantes de inseminação artificial; e de 10,06%, para as oriundas da monta natural.

### 3.2.1.2. Efeito do intervalo inseminação artificial/cobrição à ovulação sobre a fertilidade de éguas

A determinação do dia ou do momento da ovulação é de grande importância para a coordenação do momento mais oportuno da cobrição, tanto para o regime de monta natural quanto para o de inseminação artificial. Isto permite maximizar o uso do garanhão, diminuindo o risco de contaminação uterina, por reduzir a quantidade de inseminações ou montas por ciclo estral, além de propiciar melhor manejo das éguas susceptíveis à endometrite (vanBuiten *et al.*, 2003).

O período de viabilidade da célula espermática e do oócito *in vivo* é bastante controverso. Estudos apontam para uma viabilidade do gameta masculino após a cobrição de 48 a 72 horas, e de 6 a 18 horas para o oócito, após a ovulação. Esta variabilidade determina o intervalo máximo entre a inseminação artificial ou a cobrição e a ovulação, capaz de proporcionar boa fertilidade (Woods *et al.*, 1990). Alguns trabalhos compararam a fertilidade de éguas cobertas em diferentes intervalos antes e/ou após a ovulação (Zivotkov, 1941; Laing, 1943; Kedrov, 1944; Cheng, 1965; Kamhi e

Varadin, 1964; Palmer, 1984; Woods *et al.*, 1990), havendo um decréscimo das taxas de concepção proporcional ao aumento do intervalo da cobrição à ovulação (Kamhi e Varadin, 1964).

O macho libera em um ejaculado, milhões de células espermáticas, em diferentes estádios de maturação. A fêmea, diferentemente, libera um oócito por ovulação, o qual sofre grande risco de degeneração por ser uma estrutura grande, única e apresentar uma variedade de organelas citoplasmáticas mais instáveis. A partir de 12 horas após a liberação do oócito ocorrem mudanças que resultam na sua degeneração (Hunter, 1990).

A viabilidade do oócito na espécie equina, de até 24-30 horas (Woods *et al.*, 1990), é superior quando comparada à das demais espécies domésticas (8-10 horas), o que se deve, possivelmente, ao estágio de maturação em que se encontra o gameta equino, quando é liberado. O oócito pode ser liberado ainda imaturo, como oócito primário, secundário ou até mesmo em uma condição intermediária, entre os estádios I e II da meiose, podendo essa variação ocorrer entre animais e entre ciclos. Segundo Hunter (1990), essa variação pode ser atribuída à ausência do pico pré ovulatório de gonadotrofinas (LH), como ocorre em bovinos, ovinos e suínos. Entretanto, deve-se enfatizar neste momento, que a possibilidade de fertilização não indica que a gestação irá a termo, pois fertilizações acima de 12 horas pós-ovulação têm sido acompanhadas por grandes taxas de morte embrionária nas fêmeas equinas.

A qualidade dos gametas não é o único fator importante para a fertilização. É possível que a presença de fluidos tubáricos e uterinos dependa da secreção ovariana de esteroides e hormônios peptídeos. Além disso, bem próximo da ovulação há uma mudança, envolvendo a síntese predominante de estrógeno pelo folículo dominante para a secreção de progesterona,

produzida pelo corpo lúteo. Assim, o estro prolongado apresentado pelas fêmeas da espécie equina possibilitaria uma maior viabilidade espermática no sistema genital, sob dominância estrogênica, o que justificaria taxas de concepção razoáveis, quando de inseminações ou cobrições pré ovulatórias a intervalos tão longos quanto 72 horas (Hunter, 1990), antes da sua ocorrência.

A determinação do melhor momento para a cobrição em equídeos é de extrema importância visando-se minimizar o número de saltos por concepção (Hughes *et al.*, 1972b). Isso é especialmente importante quando se trabalha com éguas consideradas susceptíveis à infecções uterinas (Jacob *et al.*, 2000), além de permitir um melhor aproveitamento de reprodutores de alto mérito genético, localizados a grandes distâncias das matrizes, ou quando os mesmos necessitam servir um elevado número de éguas, durante a estação de monta.

Ao se compararem inseminações realizadas dentro de até 24 horas da ovulação, com inseminações realizadas de 24 a 48 horas antes de sua ocorrência, e até mesmo de inseminações realizadas até 12 horas após a ovulação, Heiskanen *et al.* (1994), obtiveram melhores resultados para as éguas submetidas ao segundo sistema de cobrição. Palmer (1984), analisando éguas inseminadas a intervalos de até 24 horas, ou de até 12 horas antes da ovulação, bem como de inseminações realizadas 12 a 24 horas após a ovulação, observou taxas de concepção por ciclo de 50%, 47% e 18% respectivamente, notando uma queda drástica da fertilidade quando o intervalo passou de 0-12 para 12-24 horas após a ovulação.

Belling (1984) analisou os dados de 355 éguas PSI e Quarto de Milha, submetidas à uma cobrição por ciclo, realizada em um período de duas horas após a detecção da ovulação, compreendendo um intervalo

máximo de 24 horas pós-ovulação. Observou-se, neste trabalho, um número médio de serviços por concepção de 1,45, com taxas de concepção de 74,05%; 16,04%; 5,80%; e 4,09%, do primeiro ao quarto ciclo, respectivamente.

Quando da utilização do sêmen de um garanhão, diluído em diluidor de leite em pó desnatado - glicose e resfriado por um período mínimo de seis horas, Palhares (1997) obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, e taxas de concepção/ciclo, respectivamente, de 45,46% e 46,88% no intervalo de 24 horas pré ovulação; de 40,0% e 54,55% no intervalo de 48 horas pré ovulação; de 61,11% e 63,66% no intervalo de 48 horas pré e pós ovulação, e de 50,0% e 44,44% no intervalo de 72 horas pré e pós- ovulação, os quais não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si. Quanto aos parâmetros reprodutivos como o número de ciclos/concepção, número de ciclos/égua gestante e eficiência de prenhez, não houve diferença ( $p>0,05$ ) entre os intervalos considerados.

Ao utilizarem o sêmen diluído no diluidor de leite em pó desnatado-glicose e resfriado a 14°C pelo tempo mínimo de 3,6 horas, Silva Filho *et al.* (1998) observaram uma taxa de concepção, ao primeiro ciclo, e de concepção/ciclo, respectivamente, de 63,33% e 54,76% no intervalo de 24 horas pré ovulação; de 50,0% e 39,39 % no intervalo de 48 horas pré ovulação; de 51,28% e 55,56% no intervalo de 48 horas pré e pós-ovulação e de 60,0% e 55,56 % no intervalo de 72 horas pré e pós-ovulação, sem que houvesse diferença ( $p>0,05$ ) entre eles.

Quando utilizaram o sêmen resfriado à 5°C por 24 horas, Squires *et al.* (1998) obtiveram taxas de concepção de 64%, 31% e de 41%, para os intervalos de 0,9, 2,0 e 2,0 dias, da inseminação à ovulação, respectivamente ( $p<0,05$ ). Os autores enfatizaram a importância das inseminações mais próximas da ovulação, principalmente

quando se trabalha com sêmen resfriado, devido à sua menor longevidade no sistema genital da fêmea, em relação ao sêmen a fresco.

Koskinen *et al.* (1990) avaliaram o efeito de vários intervalos envolvendo inseminações pós ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas. Utilizou-se, neste experimento, sêmen a fresco diluído, sendo os intervalos da ovulação à inseminação, os seguintes: 6-12 (n=5); 12-18 (n=5); 18-24 (n=5) e 24-30 (n=5). Todas as éguas inseminadas nos períodos de 0 a 12 e de 12 a 24 horas pós-ovulação conceberam, enquanto apenas duas do grupo de 18 a 24 horas conceberam. Por outro lado, nenhuma concepção ocorreu no grupo de éguas inseminadas no intervalo de 24 a 30 horas. Os mesmos autores avaliaram, em outro experimento, a taxa de concepção de éguas inseminadas no intervalo de 0 a 27 horas pós-ovulação. Os resultados demonstraram uma baixa taxa de fertilidade (46%), acompanhada por grande mortalidade embrionária (31%). Segundo os autores a capacidade fertilizante do oócito, na espécie equina, é reduzida após 18 horas da ovulação. Além disso, fertilizações ocorridas após esse período acarretaram maior taxa de mortalidade embrionária.

Kloppe *et al.* (1988) e Barbacini *et al.* (1999a) trabalhando com sêmen congelado, obtiveram taxas de concepção satisfatórias com inseminações realizadas dentro de até seis horas após a ovulação. Nenhum destes autores investigou os resultados da inseminação com sêmen congelado por período superior. Mckinnon (1996) sugeriu que inseminações realizadas após seis horas de sua ocorrência, resultariam em baixas taxas de concepção, enquanto Pace e Sullivan (1975) observaram um maior percentual de gestações resultante de inseminações realizadas dentro de 12 horas após a ovulação quando comparadas às realizadas 12 horas antes, quando utilizaram sêmen congelado. Entretanto, Samper *et al.* (1991) afirmam que se o sêmen a ser utilizado for de baixa qualidade, a

inseminação deveria ser efetuada dentro de um intervalo de até 6 horas antes da ovulação, condição muito difícil de ser conseguida, em virtude de até o presente momento não ser possível a previsão da ovulação neste grau de refinamento.

Segundo Xavier (2006), a associação de inseminações pré e pós-ovulação talvez seja necessária para obtenção de melhores taxas de fertilidade quando um sêmen de baixa viabilidade for utilizado no sistema genital das éguas, de forma a permitir o estabelecimento de um reservatório espermático adequado no momento da ovulação.

A literatura é escassa no que diz respeito à influência do intervalo da inseminação artificial ou cobertura à ovulação, sobre a fertilidade de jumentas ou éguas inseminadas com sêmen asinino. Neste sentido, Leite (1994) trabalhando com sêmen a fresco diluído de asininos, não observou ( $p>0,05$ ) influência dos intervalos de 24 ou 48 horas pré-ovulação sobre as taxas de concepção obtidas.

Ao trabalharem com sêmen resfriado de jumento, Ferreira (1993) observou taxas de concepção de 61,8% e 88,9%, respectivamente, para éguas inseminadas nos intervalos de 24 a 48 horas antes da ovulação, e de até 24 horas antes da ovulação. As inseminações realizadas dentro de um período máximo de 12 horas pós-ovulação resultaram em 85,7% de éguas gestantes, não diferindo ( $p>0,05$ ) do grupo de éguas inseminadas dentro de até 24 horas antes da ovulação. O efeito do intervalo IA-ovulação ficou mais evidente ( $p<0,05$ ) quando se realizou apenas uma inseminação. Neste sentido, quando a inseminação foi realizada até 24 horas pré-ovulação, observou-se taxa de concepção de 85%, contra apenas 53,6% quando a inseminação foi realizada no intervalo de 24 a 48 horas pré-ovulação. Nos casos onde foram realizadas duas inseminações, não observou-se diferenças ( $p>0,05$ ), quanto ao percentual

de éguas gestantes, em relação ao intervalo da IA-ovulação de até 24 horas pré-ovulação (93,75%) e de 24-48 horas pré-ovulação (100%).

O transporte do sêmen e a sobrevivência espermática no sistema genital de éguas variam entre garanhões férteis e subférteis, entre éguas férteis e subférteis e entre o sêmen a fresco e congelado (Drobnis e Overstreet, 1992). Entretanto, a maioria dos autores concorda que quanto mais próximo da ovulação for realizada a inseminação, maiores serão as taxas de concepção obtidas.

### 3.2.1.3. Efeito do número de inseminações artificiais/ciclo

A frequência de cobrições ou inseminações é um dos aspectos mais importantes do manejo reprodutivo dos equinos e depende fundamentalmente da individualidade do garanhão e do tipo de sêmen utilizado. Em relação à individualidade do garanhão, deve-se considerar a importância da motilidade progressiva, morfologia espermática, tempo exigido para a capacitação, concentração da dose inseminante e longevidade da célula espermática no sistema genital da fêmea (Silva Filho et al., 1994).

Segundo Pickett *et al.* (1987), uma eficiência reprodutiva máxima pode ser obtida pela interação entre concentração espermática e frequência de inseminações. Assim, uma alta frequência de inseminações pode ser acompanhada pela redução do número de espermatozoides por dose inseminante, como se observa na monta natural. A fertilidade irá depender da viabilidade das células espermáticas no sistema genital da fêmea, ou seja, quando esta diminui, frequência e concentração espermáticas deveriam ser aumentadas. Por outro lado, na presença de maior viabilidade dos espermatozoides no sistema genital feminino, ao contrário, menor número de inseminações e menor concentração

espermática por dose inseminante poderiam ser utilizadas.

Alguns autores observaram efeito positivo de um maior número de inseminações por ciclo sobre as taxas de concepção (Burwash *et al.*, 1974; Voss *et al.*, 1979; Voss *et al.*, 1982; Pickett *et al.*, 1987; Ferreira, 1993). Segundo Ginther (1992), inseminações repetidas poderiam aumentar a disponibilidade de espermatozoides no reservatório espermático, até o momento da ovulação. No entanto, muitos trabalhos têm demonstrado que a maior frequência de inseminações ou cobrições por ciclo não respondeu por maiores taxas de concepção (Pickett *et al.*, 1987; Silva Filho *et al.*, 1991; Silva Filho et al., 1994; Lima, 1995; Palhares, 1997; Valle, 1997; Brandão, 2001). Entretanto, quando em excesso, têm sido responsabilizadas por resultados de fertilidade insatisfatórios, devido à maior contaminação bacteriana do sistema genital da égua.

Segundo Sieme *et al.* (2003), a frequência de inseminações influenciou ( $p < 0,05$ ) a taxa de prenhez/ciclo de éguas inseminadas com sêmen resfriado à 5°C, diluído em diluidor à base de leite desnatado e estocado por 2-4 horas. Ao serem submetidas a controle folicular a cada 12 horas, as éguas inseminadas uma única vez por ciclo, apresentaram taxa de concepção de 49,7%, que diferiu ( $p < 0,05$ ) da de 71,4%, obtida quando as éguas foram inseminadas três vezes por ciclo. Entretanto, as submetidas à duas inseminações (56,5%) não diferiram ( $p < 0,05$ ) dos dois grupos anteriores. Neste trabalho, quando considerou-se o intervalo da inseminação à ovulação, os autores observaram que éguas inseminadas uma vez por ciclo, dentro de 24 horas da ovulação apresentaram uma taxa de concepção de 57,7%, similar à obtida pelas éguas inseminadas duas (56,5%) ou três vezes por ciclo (71,4%).

Ao trabalharem com sêmen de jumentos, diluído em diluidor de lactose-gema de ovo

e resfriado à 5°C por 24 a 48 horas, Ferreira (1993) observou taxas de concepção por ciclo de 69,9% (39/56) para éguas inseminadas uma vez, e de 96,8% (30/31) para éguas inseminadas duas vezes ( $p < 0,01$ ). Por outro lado, Leite (1994) não observou influência do momento e da frequência de inseminações sobre as taxas de gestação obtidas, ao trabalhar com sêmen a fresco diluído de jumentos.

Com o objetivo de avaliar a relação entre o número de inseminações e a fertilidade de jumentas, Palhares *et al.* (1986) obtiveram um número de 1,6 inseminações/jumenta gestante e 2,8 inseminações/jumenta vazia, ao utilizarem o sêmen a fresco diluído de jumentos.

Em um trabalho envolvendo 240 éguas, Silva (1988) utilizou sêmen a fresco diluído de jumentos da raça Pêga, em três estações de monta consecutivas. O número de inseminações artificiais por égua, nas três estações de monta estudadas, foi de 2,68, 3,26 e 2,19, sendo o número de inseminações por égua gestante de 3,93, 3,96 e 2,38. Observa-se que o número de inseminações diminuiu no transcórrer do trabalho, em função da maior utilização das mesmas após a ovulação. As taxas de concepção, ao primeiro ciclo, foram de 52,4%, 52,2% e 68,5%, respectivamente, para as três estações de monta.

A eficiência dos programas reprodutivos é maximizada quando se limita o número de inseminações, além de reduzir a contaminação iatrogênica do sistema genital das fêmeas, principalmente nos casos em que se trabalha com éguas susceptíveis à infecções uterinas pós-cobrição (Brinsko e Varner, 1993). Além disso, a redução do número de inseminações ou cobrições reduz gastos com material, tempo e mão de obra especializada, poupando também o gananhão, através da redução do número de saltos por estação de monta (Brandão, 2001).

A partir de um controle reprodutivo veterinário frequente é possível obter-se taxas de concepção similares com uma ou múltiplas inseminações. Segundo Palhares *et al.* (1998), a fertilidade depende muito mais do intervalo adequado entre a inseminação/cobrição e a ovulação, do que da frequência de inseminações, na presença de uma concentração espermática adequada.

#### 3.2.1.4. Efeito da categoria reprodutiva da égua

As éguas podem ser divididas de acordo com a sua categoria reprodutiva, representada pelas potras (éguas jovens que nunca conceberam), éguas solteiras (vazias na estação reprodutiva anterior), éguas paridas (com potro ao pé), e no “cio do potro” (no primeiro cio pós-parto). Cada categoria possui as suas particularidades e influências sobre a eficiência reprodutiva.

Segundo Waelchli (1990) e Kossin (1995) há uma importante relação entre a categoria reprodutiva e a fertilidade potencial de uma égua, estando a redução da fertilidade diretamente relacionada ao número de anos consecutivos em que a égua não concebeu.

Para Von Lepel (1975) potras e éguas gestantes possuem um potencial de fertilidade superior (70-100%) ao de éguas que não conceberam na estação anterior (50-70%), ao das vazias por mais de duas estações reprodutivas consecutivas (25-50%), e bem superior ao daquelas susceptíveis às infecções ou com idade avançada (< 25%).

Sullivan *et al.* (1975) verificaram taxas de concepção de 44%, 40% e 54%, no primeiro ciclo, para potras, éguas solteiras, e no “cio do potro”, respectivamente. Após cinco ciclos, foram de 84%, 74% e 84%, para as três categorias reprodutivas na mesma ordem anterior. A taxa de concepção para éguas no “cio do potro” foi menor ( $p < 0,05$ )

que a apresentada por éguas cobertas após a sua ocorrência.

Woods *et al.* (1987) observaram menor taxa ( $p < 0,05$ ) de gestação para as éguas solteiras (47%), em relação às potras (58%) e éguas no pós-parto (56%). Verificou-se também, um menor potencial de fertilidade nas éguas vazias da estação de monta anterior.

Morris e Allen (2002) apontaram potras e éguas paridas como categorias de alta fertilidade, ao contrário das éguas solteiras, que apresentaram dificuldades em conceber na estação de monta anterior. Entretanto, Mitchell e Allen (1975) em estudo conduzido por quatro estações de monta consecutivas, utilizando 137 potras jovens, expostas ao garanhão pela primeira vez, obtiveram uma taxa de concepção de 69,34%, sendo que dessas, 46,32% sofreram aborto espontâneo. Exames complementares não permitiram responsabilizar agentes infecciosos ou deficiências hormonais como causas dos abortos. Assim, os autores concluíram que a alta incidência de perdas ocorreu, principalmente, em função da imaturidade das fêmeas púberes.

Gibbs e Davison (1992) avaliando a eficiência reprodutiva de éguas mantidas em pastagem nativa, apenas com pequena suplementação, observaram uma taxa de parto média de 80%, sendo que, para éguas que permaneceram vazias na estação de monta anterior registrou-se uma taxa de parto de 94%, percentagem superior ( $p < 0,05$ ) à registrada para as éguas paridas (74%).

Em estudo envolvendo 1255 éguas PSI, avaliadas durante cinco estações de monta, obteve-se taxas de gestação e de gestação por ciclo, respectivamente, de 80% e 52% para éguas lactantes; 84% e 49% para éguas solteiras; e de 85% e 49% para potras, não havendo diferença ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (Fernandes *et al.*, 1995). No entanto, éguas lactantes no “cio do potro” apresentaram uma taxa de reabsorção embrionária superior

(6,2%) às demais (2,8% para as solteiras e 0% para as potras).

Hemberg *et al.* (2004) avaliaram a eficiência reprodutiva de 430 éguas puro sangue, submetidas a um regime de monta natural com dois garanhões, durante os anos de 1997 a 2001 na Suécia. As taxas de concepção e de potros nascidos vivos não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre as diferentes categorias reprodutivas. O número de saltos/potro nascido vivo foi menor ( $p < 0,05$ ) nas éguas paridas e nas não inseminadas na estação anterior, sendo de 1,73 e 1,33, respectivamente. Éguas que reabsorveram ou abortaram apresentaram os maiores valores, gastando-se 2,60 saltos/produto nascido vivo. Além disso, éguas solteiras e inférteis responderam por valores de 1,84 e 1,98, respectivamente.

Rossi (2008) avaliou a eficiência reprodutiva de 208 éguas, divididas em quatro categorias reprodutivas: potra, solteira, parida, e no “cio do potro”. As éguas foram inseminadas com sêmen asinino a fresco ou resfriado, diluído em diluidores à base de leite em pó desnatado-glicose ou glicina-gema de ovo, quando não observou-se efeito ( $p > 0,05$ ) da categoria reprodutiva sobre a fertilidade.

Ao trabalharem com receptoras da raça Mangalarga Marchador em um programa de transferência de embriões, Rabelo (2009) encontrou taxas de concepção, ao sétimo dia após a transferência, de 71,43% (15/21) para fêmeas nulíparas, de 55% (11/20) para fêmeas pluríparas lactantes e de 75% (15/20) para fêmeas pluríparas não lactantes, não tendo sido observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre as taxas. Mesmo não tendo diferido, a categoria de éguas pluríparas lactantes apresentou a maior taxa de perda embrionária até o 30º dia de gestação (63,33%), contra 26,66% para fêmeas nulíparas e de 33,33% para as pluríparas não lactantes.

A menor fertilidade durante o “cio do potro”, em relação à de estros subsequentes tem sido associada à incompleta eliminação

de microorganismos diante de uma involução uterina incompleta e, assim, de falhas na eliminação de bactérias introduzidas no ambiente uterino durante a cópula ou inseminação artificial (McKinnon *et al.*, 1988). A maioria das éguas tem diferentes níveis de contaminação bacteriana do útero após o parto, embora grande parte delas seja capaz de eliminar as bactérias até o “cio do potro” (Saltiel *et al.*, 1987). Devido à possibilidade da involução uterina não estar completa quando do primeiro cio pós-parto, o ambiente uterino inapropriado pode tanto impedir que os espermatozoides atinjam o local da fertilização, como pode comprometer o desenvolvimento embrionário normal (Huhtinen *et al.*, 1996). Pelas razões expostas, éguas no “cio do potro” apresentaram maiores taxas de reabsorção embrionária (17%) do que as cobertas no segundo estro pós-parto e nos subsequentes (11% e 7% respectivamente), e às éguas solteiras (2%) (Merkt, 1966).

Muitos estudos indicam uma menor taxa de concepção (10 a 33%) em éguas cobertas no primeiro cio pós-parto, quando comparada à de estros subsequentes. Fatores relacionados ao manejo contribuem para a variação nas taxas de gestação em diferentes experimentos (Loy, 1980). Segundo Reiner *et al.* (1988), desde que o parto não tenha complicações e que a égua esteja sadia, é vantajoso utilizar a cobrição de éguas no “cio do potro”, visto que se poupa tempo, além de se evitar que as fêmeas possam entrar em anestro.

Ao trabalharem com éguas árabes em regime de monta natural, El-Wishy *et al.* (1990) observaram taxa de nascimento de 33% para as éguas cobertas nos primeiros oito dias pós-parto, inferior em 11% ( $p < 0,05$ ) ao valor encontrado para éguas cobertas após nove dias pós-parto. Neste estudo, também observou-se maior taxa de perda gestacional (4,3%) nas éguas cobertas nos primeiros 10 dias pós-parto. Resultados similares foram demonstrados por Mattos *et al.* (1991), quando observaram-se taxas de

gestação superiores em éguas apresentando maior intervalo entre o parto e a ovulação. Assim, as taxas de concepção encontradas para ovulações até o 10º dia, entre o 11º e o 14º, e após o 15º dia pós-parto, foram de 35%; 42% e 50%, respectivamente.

Entretanto, Morris e Allen (2002) não observaram ( $p > 0,05$ ) diferenças significativas quanto às taxas de concepção, entre as éguas cobertas no “cio do potro” (57,6%) e no estro subsequente (65,9%), embora tenha sido evidenciada maior taxa de perda embrionária nas primeiras. A taxa de potros nascidos vivos foi de 45,2% para o grupo de éguas em que utilizou-se o “cio do potro”, de 52,1% para éguas cobertas no segundo cio pós-parto, e de 67,5% para os cios subsequentes. Já Loy (1982), obteve taxas de concepção e de perdas gestacionais similares entre as éguas cobertas no “cio do potro” (84,1%; 12,7%) ou no segundo ciclo pós-parto (88,6%; 11,4%).

Em 1988, Silva obteve altas taxas de concepção para as categorias de potras e de éguas cobertas no “cio do potro”, de 100,0% (1/1) e 81,8% (9/11) na estação reprodutiva de 85/86 e de 73,3% (11/15) e 100,0% (19/19) na estação de 86/87, respectivamente. No entanto, na última estação de monta, observou-se uma alta taxa (21,05%) de reabsorção embrionária no grupo de éguas inseminadas no “cio do potro”.

No estudo conduzido por Ferreira (1993) envolvendo éguas inseminadas com sêmen de jumentos para a produção de muare, observaram-se taxas de gestação para potras, éguas solteiras e éguas com potro ao pé de 81,8%, 93,7% e 81,8% respectivamente, após considerar-se as perdas embrionárias. O número de ciclos por gestação para as três categorias foi de 1,2; 1,4; e 1,5, respectivamente. Para a autora, a taxa de concepção superior obtida no grupo de éguas solteiras pode ter se dado pelo não aproveitamento desses animais na estação anterior, ou por terem apresentado algum



problema reprodutivo transitório, sem comprometimento grave da fertilidade, devidamente confirmada na estação de monta subsequente.

#### 3.2.1.5. Efeito da idade da égua

A senilidade reprodutiva é caracterizada pelo declínio da fertilidade. No garanhão, a qualidade espermática e a libido diminuem, enquanto nas éguas a senescência está relacionada à diferentes fatores, dentre os quais estão incluídos desequilíbrio endócrino (Carnevale *et al.*, 1993, 1994), desarranjo das estruturas do oócito (Hunter, 1990), alterações dos ambientes tubárico (Brinsko *et al.*, 1994; Brinsko *et al.*, 1996) e uterino (Carnevale e Ginther, 1992; LeBlanc, 2003) e alterações de conformação vulvar (Greenhoff e Kenney, 1975; Pascoe, 1979) fatores que estão diretamente associados à redução da eficiência reprodutiva.

A idade a partir da qual ocorre o declínio das taxas de concepção apresenta, ainda, considerável controvérsia na literatura. Assim, ao avaliarem 659 éguas com data de nascimento conhecida, Hutton e Meacham (1968) observaram que a fertilidade média flutuou até os sete anos, atingiu um pico de 89,6% aos nove anos, e manteve-se em um platô acima de 70% até os 15 anos, declinando gradualmente após esta idade.

McDowell *et al.* (1992) trabalhando com éguas PSI com idades variando de um a trinta anos, por duas estações reprodutivas, observaram uma redução na taxa de potros nascidos, proporcional ( $p < 0,0001$ ) ao aumento da idade das éguas. O estudo demonstrou, ainda, que a taxa de potros nascidos foi máxima dos três aos dez anos, declinando a partir daí. De 32 éguas com 27 anos, apenas uma produziu um potro, e nenhuma égua, de um total de 28 fêmeas, entre 28 e 30 anos de idade, produziu uma cria.

Da mesma forma, Laing e Leech (1975) trabalhando com 852 éguas, observaram tendência à queda da fertilidade a partir dos dez anos de idade, com taxas de concepção de 82,7%; 82,5%; 78,9% e 74,7%, respectivamente, para os grupos de éguas com 2-5 anos; 6-9 anos; 10-13 anos; e acima de 14 anos.

Woods *et al.* (1987) demonstraram que a fertilidade manteve-se estável em éguas com idades entre 2 e 13 anos, declinando a partir dos 14 anos. As taxas de concepção e as de perdas gestacionais foram de 56% e 12%; de 55% e 14%, de 60% e 9%; de 51% e 14%; de 45% e 24% e de 33% e 33% para as idades de 2-5; 6-9; 10-13; 14-17; 18-21 e acima de 21 anos de idade, respectivamente.

Para estudar o efeito da idade sobre a fertilidade Valle *et al.* (1999) agruparam 147 ciclos estrais de 99 éguas por classe de idade (3-6 anos, 7-10 anos, 11-14 anos, 15-19 anos). Neste trabalho, observou-se uma redução da fertilidade, traduzida pela redução das taxas de concepção/ciclo, progressivamente com o envelhecimento das éguas, sendo de 62,07%; 63,64%; 52,50% e 29,41%, na mesma ordem descrita anteriormente, para as classes de idade.

Ao estudarem o ângulo de inclinação e o comprimento da vulva em éguas de diferentes faixas etárias, Pascoe (1979) observou que quanto mais velha a égua, maior foi o ângulo de inclinação da vulva, que por sua vez esteve intimamente relacionado à redução das taxas de concepção. Justificativa para tal associação se dá pela maior probabilidade de estabelecimento de endometrites acompanhando a horizontalização vulvar.

O avançar da idade e o aumento de parições, faz com que o útero adquira uma posição mais crânio-ventral no abdômen, causada pela perda do suporte estrutural caudal do aparelho genital feminino e estiramento do ligamento largo. Assim, podem ocorrer falhas na limpeza uterina, advindas da alteração do posicionamento do aparelho

genital e aumento de angiopatias em vasos uterinos (LeBlanc, 2003), o que torna éguas de idade avançada mais susceptíveis às endometrites induzidas pós-cobertura (LeBlanc, 2003; Hurtgen, 2006).

As alterações hemodinâmicas e hormonais durante a gestação e o puerpério induzem a remodelagem vascular. O ciclo vascular de crescimento durante a gestação e a involução no pós-parto resultam em progressiva degeneração vascular. Além disso, severa angiose é associada à flebectasia e linfangectasia que podem estar relacionadas à infertilidade em éguas mais velhas, bem como à redução da circulação sanguínea uterina e linfática (Grüninger *et al.*, 1998).

Waelchli (1990), analisando dados de 192 éguas subférteis, separou as fêmeas em duas faixas etárias (até 11 anos de idade e a partir de 12 anos). A taxa de concepção total foi significativamente menor no grupo de éguas mais velhas, sendo de 47%, contra 72%, correspondente às fêmeas mais jovens. Após análise dos dados de fertilidade e histologia uterina, o autor concluiu que a fertilidade na égua é controlada por alterações endometriais relacionadas à idade, associadas a efeitos diretos da idade, ainda indefinidos.

Carnevale *et al.* (1993) avaliaram a atividade endócrina e ovariana de éguas pôneis divididas em três grupos etários: jovem (5-7 anos), intermediário (15-19 anos) e com idade avançada (acima de 20 anos). Observou-se, para o terceiro grupo, menor onda e pico de LH, maior duração da fase folicular (11,7 vs 9,4 dias) e do intervalo entre ovulações (26,5 vs 23,9 dias), apesar de não terem sido observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) nas concentrações de progesterona entre os grupos. Análises adicionais demonstraram uma emergência folicular com um número reduzido de folículos por onda nas éguas mais velhas (Ginther *et al.*, 1993). Durante o processo de envelhecimento, as éguas demonstraram

reduzida atividade folicular, intervalos prolongados entre ovulações, reduzido número de folículos e concentrações séricas mais elevadas de FSH e LH na fase folicular de extensão anormal (Carnevale *et al.*, 1994). Ainda, Carnevale *et al.* (1997), observaram maior atividade folicular e maior diâmetro dos folículos primário e secundário no grupo de éguas jovens, em comparação ao de éguas mais velhas. Três de nove éguas, com idades acima de 20 anos, sequer tiveram crescimento folicular acima de 20 mm de diâmetro, que foi atingido por todas as éguas do grupo jovem, demonstrando-se, dessa maneira, que a senescência ocorre em éguas acima dos 20 anos de idade.

Em estudo conduzido por Vanderwall e Woods (1991), éguas com idades acima de 19 anos iniciaram a atividade reprodutiva sazonal duas semanas após as éguas com idade inferior à 13 anos, reduzindo em 10% a estação reprodutiva efetiva. Além disso, observou-se que as éguas mais velhas são mais susceptíveis a falhas de ovulação. Para os autores, a fertilidade da égua começa a declinar a partir dos 12 anos.

Mattos *et al.* (1991) encontraram taxas de concepção de 44,8%; 42% e 34,3% para éguas com idade inferior à oito anos, entre 9 e 12 anos, e acima de 13 anos, respectivamente, demonstrando-se queda na taxa de fertilidade com o avançar da idade. Resultados similares foram encontrados por Morris e Allen (2002), que observaram maior taxa de parto para éguas com idades entre 3 e 8 anos (86,6%) quando comparadas às éguas mais velhas, com 14 a 18 anos (73,1%  $p < 0,005$ ), demonstrando-se novamente que a idade é o componente mais importante da subfertilidade.

Ao avaliarem o efeito da idade sobre a fertilidade de éguas destinadas à produção de muare, Jordão *et al.* (1954) observaram que éguas com idades entre 9 e 11 anos apresentaram as taxas de concepção mais elevadas, enquanto as com idade entre 21 e

23 anos, a menor. Fêmeas mais jovens (entre 3 e 5 anos) apresentaram fertilidade superior à média geral.

Alguns autores, dentre eles Ball *et al.* (1986) e Ginther (1992), têm relatado que as taxas de fertilização aproximam-se dos 90% e não sofrem grande interferência da idade, sendo de 91-96% para éguas jovens e de 81-92% para as éguas de idade mais avançada. Assim parece que a menor fertilidade observada em éguas mais velhas é oriunda de maiores taxas de perdas embrionárias e não de falhas na concepção. Ainda Ball (2000) tem estabelecido que as éguas idosas são mais propensas a apresentarem perdas gestacionais que éguas jovens e, embora ocorram perdas durante a gestação avançada, a maior parte destas ocorrem no início da gestação.

A redução da taxa de parto e a maior incidência de perdas gestacionais em éguas de idade avançada podem ser explicadas pela baixa qualidade oocitária nesses animais. Éguas idosas possuem oócitos de mesma idade (McDowell, 2008). Isto implica em não-disjunção dos cromossomos bivalentes e a separação prematura das cromátides irmãs, sendo associadas à ocorrência de aneuploidia.

Henry (1981) observou maior ocorrência de aderências de infundíbulo tubárico em éguas com idades acima de 10 anos, que, associada à ocorrência de salpingite e endometrite, também comuns em éguas de idade avançada, contribuiu para as menores taxas de fertilidade, observadas nesse grupo de éguas.

Independentemente dos efeitos da tuba e das patologias uterinas, a taxa de subfertilidade em éguas mais velhas poderá ser consequência da fecundação de oócitos que não tiveram maturação meiótica apropriada, bem como pela maior prevalência de anormalidades cromossômicas nestas fêmeas. Isto porque o oócito de éguas mais velhas requer maior período de tempo para maturar até a segunda metáfase, quando

comparado com oócito de éguas mais jovens (Brinsko *et al.*, 1995).

### 3.2.1.6. Efeito do reprodutor

O garanhão é uma importante fonte de variação, que deve ser considerada em qualquer que seja a avaliação que se proponha sobre a fertilidade (Palhares, 1989). Além disso, a fertilidade de um garanhão pode ser influenciada pelo seu uso, comportamento sexual, momento e método de cobertura, e também pela fertilidade das éguas, dentre outros fatores (Hurtgen, 1992). Como um único garanhão pode ser exigido para a cobertura de um grande número de éguas, a sua fertilidade exerce papel crítico na eficiência reprodutiva do plantel (van Buiten *et al.*, 2003).

Diferentes propostas de avaliação das características seminais do garanhão e de sua relação com a fertilidade têm sido relatadas, entretanto, com resultados conflitantes. Há discrepância na literatura quanto ao número de ejaculados necessários para avaliar as características seminais de um garanhão, variando de dois (Pickett *et al.*, 1975) a cinco (Palmer e Fauquenot, 1984).

Segundo Rousset *et al.* (1987), a capacidade reprodutiva de um garanhão somente poderia ser avaliada após pelo menos seis estações de monta, se o garanhão cobrir no mínimo 25 ciclos/ano. Para Kenney *et al.* (1983) um garanhão deveria servir 40 éguas em monta natural, ou 120 em inseminação artificial, e obter taxa de concepção de 75% para ser considerado fértil.

A literatura envolvendo o efeito da qualidade espermática sobre a fertilidade é contraditória, embora muitos autores tenham reportado que a percentagem de espermatozoides, morfológicamente normais ou anormais, pode estar relacionada à taxa de concepção obtida (Parkinson, 2004).

Mesmo que as diferenças de manejo sejam consideradas importantes no estudo da relação entre fertilidade e qualidade seminal, na espécie equina, pode-se esperar índices de concepção mais elevados e melhor eficiência reprodutiva à medida que existam maiores percentuais de espermatozoides normais no ejaculado (Fernandes e Pimentel, 2002). No entanto, muitos trabalhos relatam que nenhum dos parâmetros de qualidade do sêmen, comumente analisados, são confiáveis ou consistentemente relacionados com a fertilidade (Parkinson, 2004).

Assim, Pimentel *et al.* (1989) compararam a fertilidade de quatro garanhões, com diferentes percentagens de espermatozoides normais, utilizados em monta natural. Os garanhões 1, 2, 3 e 4 apresentaram 40%, 61%, 68% e 82% de espermatozoides normais, respectivamente. As taxas de concepção para os mesmos foram de 67%, 80%, 83% e 87%, respectivamente, havendo correlação positiva ( $p > 0,01$ ) entre a taxa de espermatozoides normais e a taxa de concepção obtida. Além disso, os autores verificaram tendência significativa de se esperar um aumento de 0,44% na taxa de concepção, para cada unidade de aumento de células espermáticas normais no ejaculado.

Morris e Allen (2002) encontraram taxas de concepção por ciclo variando de 37% a valores superiores à 90%, por volta dos 15 dias pós ovulação, em 41 garanhões estudados, os quais serviram dez ou mais éguas. Para um mesmo garanhão, a taxa de concepção acumulativa variou de 69 a 100%. No entanto, garanhões que apresentaram as maiores taxas de prenhez acumulativa, não exibiram, necessariamente as maiores taxas de prenhez por ciclo. Embora tenham sido observadas diferenças significativas quanto às taxas de concepção, entre os garanhões estudados, quando considerou-se influências da idade e categoria reprodutiva das éguas, na análise multivariada, nenhum efeito global do reprodutor sobre a taxa de concepção foi observado.

Jordão e Gouveia (1950) ao avaliarem a fertilidade de 24 garanhões PSI, submetidos à monta natural, obtiveram taxas de concepção variando de 51,2% a 79,3%, com uma média de 60,3%. As percentagens de potros nascidos vivos variaram de 48,2% a 75,7%, com média de 56,4%. Nagase *et al.* (1966) encontraram índices de fertilidade de 47,3%, 26,8% e 12,5%, para os garanhões A, B, e C, respectivamente, embora trabalhassem apenas com 42 éguas. Pickett *et al.* (1974) verificaram uma fertilidade, ao primeiro ciclo, de 66,7%, 62,5% e 58,3% para os garanhões A, B e C, ao trabalharem com 24 éguas. Após três ciclos, a fertilidade foi de 91,7%, 91,7% e 79,2%, respectivamente, para os garanhões A, B e C, não sendo encontradas diferenças entre eles.

Rossi (2008) comparou a fertilidade de quatro jumentos da raça Pêga, utilizados como doadores de sêmen para a inseminação artificial com sêmen a fresco (experimento I) ou resfriado (experimento II), utilizando-se os diluidores de leite em pó desnatado-glicose ou glicina-gema de ovo. As taxas de concepção/ciclo foram de 57,89 e 36,21% para o jumento 1; de 35,71 e 43,75% para o jumento 3; de 56,25 e 46,30% para o jumento 4 e de 71,43 e 74,47% para o jumento 5, nos experimentos I e II, respectivamente, de forma que o jumento 5 apresentou fertilidade superior ( $p < 0,05$ ) à dos outros, quando se utilizou sêmen resfriado. O diluidor utilizado não influenciou ( $p > 0,05$ ) as taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído ou diluído e resfriado. Os jumentos diferiram entre si, com relação às características seminais e à fertilidade de éguas, demonstrando-se grande variação individual entre os mesmos.

Em geral, garanhões com menos de três ou mais de 14 anos de idade possuem baixa qualidade seminal. O tamanho dos testículos do garanhão continua a crescer até aproximadamente seis anos de idade, de forma que a produção espermática de

garanhões mais jovens tende a ser menor que a de garanhões mais velhos. No entanto, garanhões mais velhos podem produzir espermatozoides com maior percentual de defeitos morfológicos, sendo que a taxa de gestação por ciclo é de, aproximadamente, 8% menor que a de animais com idade variando entre três e quatorze anos (van Buiten *et al.*, 2003).

Os efeitos da idade sobre a fertilidade de garanhões ainda são pouco documentados, embora incluam a redução da produção espermática, associada à degeneração testicular progressiva, que pode comprometer a libido e a capacidade de monta (McDonnell, 2005).

A reduzida qualidade do sêmen de garanhões de idade avançada pode indicar a existência de uma idade crítica, além da qual alguns reprodutores produzem elevado número de espermatozoides anormais, devido aos defeitos da espermatogênese e da função epididimária. Espera-se, normalmente, um declínio da fertilidade de garanhões com idade superior aos 10 anos, podendo os animais com 14 anos de idade ou mais estarem aproximando-se do final da sua vida reprodutiva útil. Por isto, devem ser utilizados sob rigoroso acompanhamento, compreendido por cuidadosa monitorização da qualidade seminal e da carga de trabalho. Entretanto, deve-se ressaltar que existem garanhões, nesta faixa etária, que continuam a produzir espermatozoides normalmente (Dowsett e Knott, 1996).

Independentemente da forma de utilização do sêmen (monta natural, inseminação artificial com sêmen a fresco, resfriado ou congelado), a literatura é unânime no que diz respeito às variações individuais. Vale ressaltar, ainda, que Pickett *et al.* (1970) encontraram diferenças significativas entre ejaculados de diferentes garanhões e mesmo, entre ejaculados de um garanhão.

### 3.2.1.7. Duração da gestação e sexo dos produtos

Na espécie equina, a duração da gestação varia de 310 a 374 dias (Rossdale *et al.*, 1984). Para Al Panchal *et al.* (1995), períodos entre 320 e 360 dias são considerados aceitáveis. Esta grande variabilidade no período gestacional da égua indica que, nesta espécie, a duração da gestação pode ser influenciada por fatores genéticos e ambientais (Valera *et al.*, 2006).

Alguns estudos confirmaram grandes variações na duração da gestação entre raças e entre indivíduos da mesma raça (Pérez *et al.*, 2003). Valera *et al.* (2006) observaram uma duração média da gestação de 336,8 dias para éguas da raça Andaluz, e de 340,3 dias para éguas da raça Árabe. A maior variação foi encontrada entre as fêmeas da raça Andaluz, com uma diferença de 79 dias entre os valores extremos; enquanto que para as fêmeas árabes, esta diferença foi de 54 dias. Em ambas as raças, a maior frequência foi encontrada na classe modal de 335-340 dias, compreendendo 23% das observações.

De acordo com a literatura, os principais fatores ambientais que influenciam o período de gestação em uma determinada raça estão relacionados com a idade materna, número de partos, nutrição, sexo do potro, ano, mês e época da concepção, bem como do fotoperíodo. Gerger (1960) e Zwolinski (1961) observaram que o período gestacional variou em função do mês da concepção, ano, sexo do potro e também entre garanhões. Já a idade da égua não afetou a duração da gestação.

Segundo Valera *et al.* (2006), a égua em si é o principal fator a influenciar o tempo de gestação. A correlação entre diferentes gestações de uma mesma fêmea foi moderada (0,38-0,40), mas altamente significativa. Também foram demonstrados valores de herdabilidade (0,21 para ambas as

raças) e repetibilidade (mais de 0,35 para ambas as raças), altos o suficiente para permitir a seleção desta variável em uma direção determinada. Anteriormente, Zwolinski (1961) e Ropiha *et al.* (1969) já haviam observado diferenças individuais altamente significativas entre éguas ( $p < 0,01$ ).

A idade da mãe também é considerada um fator importante pela maioria dos autores, embora haja discrepâncias na literatura (Vivo *et al.*, 1983; Pérez *et al.*, 1997; Kurtz Filho *et al.*, 1997; Sanchez *et al.*, 1999; Davies-Morel *et al.*, 2002). No estudo de Valera *et al.* (2006), a idade da égua foi um fator estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ), corroborando com os achados de Platt (1979). Já Winter (2007) avaliando gestações de éguas da raça Crioula no Brasil, não observou diferenças ( $p > 0,05$ ) na duração da gestação entre animais pertencentes a três faixas etárias: 3 a 7; 8 a 14; ou mais de 15 anos, sendo as médias para estes grupos de 336,8; 334,4 e 336,6 dias, respectivamente.

Alternativamente, outros autores concluíram que éguas primíparas tiveram períodos mais curtos de gestação quando comparadas à éguas pluríparas (Schermerhorn *et al.*, 1980). Pool-Anderson *et al.* (1994) relataram duração da gestação superior em 10 dias para éguas nulíparas em comparação às múltíparas, embora outros pesquisadores não tenham conseguido observar tais diferenças (Arora *et al.*, 1983; Sánchez *et al.*, 1999). Uma possível justificativa para isso pode ser a de que éguas primíparas (que geralmente são éguas jovens) apresentam períodos gestacionais mais longos, uma vez que não são anatomicamente e fisiologicamente preparadas como éguas múltíparas, de idade mais avançada. Da mesma forma, éguas mais velhas também podem apresentar longos períodos de gestação, devido a mudanças na implantação da placenta, com redução do suprimento de nutrientes (Hafez, 1987), e consequente redução da velocidade de desenvolvimento

fetal. Em estudo recente, Winter (2007) não observou ( $p > 0,05$ ) diferenças na duração da gestação entre éguas Crioulas primíparas ou múltíparas, sendo as médias para estas duas categorias de 339,5 e 334,8 dias, respectivamente. Entretanto, deve-se ressaltar o pequeno número de éguas primíparas avaliadas ( $n=12$ ).

Avaliando a duração da gestação em éguas Puro-Sangue durante nove anos na Austrália, Ropiha *et al.* (1969) estudaram os efeitos da égua, do mês da ovulação, sexo do potro, idade do garanhão, idade da égua e ano sobre a duração da gestação. Os períodos variaram de 315 a 387 dias. Dentre os fatores estudados, estiveram associados à duração da gestação: a égua, o sexo do potro e o mês da concepção. De maneira contrária, Rollins e Howell (1951) não observaram efeito do mês da concepção sobre a duração da gestação, embora tenham notado uma tendência de maiores períodos gestacionais para potros concebidos no mês de abril em relação aos outros meses do ano.

Neste sentido, Zwolinski (1961) observou período gestacional significativamente superior para éguas que conceberam no mês de abril. No Hemisfério Norte, o mês de abril corresponde ao mês de outubro no hemisfério Sul, mês de concepção associado à maior duração da gestação no estudo de Ropiha *et al.* (1969), sendo cerca de 10 dias superior a média. Em seu estudo, Valera *et al.* (2006) demonstraram que a duração da gestação foi reduzida à medida que a estação de monta transcorreu, corroborando com os achados de Pérez *et al.* (2003), que observaram que para cada mês transcorrido da estação de monta na qual a fêmea concebeu, houve um decréscimo de 2,75 dias na duração da gestação. No mesmo sentido, Ropiha *et al.* (1969) e Pérez *et al.* (2003) observaram períodos gestacionais mais longos para éguas que conceberam no início da estação de monta, com valores médios de 334, 341 e 340 dias para éguas que conceberam ao final, durante o período

de transição, e no início da estação de monta, respectivamente.

As diferenças na duração da gestação em equídeos associadas ao mês de concepção podem ser influenciadas por fatores como disponibilidade de alimento e/ou temperatura ambiental. Tem sido sugerido que o instinto natural para que o parto ocorra no momento ideal, ou seja, no início da primavera, pode ser conseguido através de gestações mais curtas ou mais longas, para produtos concebidos no final e início da estação de monta, respectivamente (Evans e Torbeck, 1998). Assim, as condições ambientais favoráveis podem afetar o valor nutricional das pastagens e, em consequência, a égua pode ter uma maior ingestão alimentar, de forma que o potro leva menos tempo para alcançar o peso adequado para o nascimento (Davies-Morel *et al.*, 2002). Rollins e Howell (1951), Langlois (1973) e Hafez (1987) observaram que éguas bem nutridas têm períodos gestacionais mais curtos, quando comparadas àquelas que recebem apenas dieta de manutenção. Além disso, a nutrição pode acelerar ou retardar o crescimento fetal e a maturidade pré-natal. Como tal, o equilíbrio entre exigências nutricionais maternas e fetais no final da gestação, pode explicar em parte as variações na duração da gestação em éguas (Fowden *et al.*, 1984). Sendo assim, o momento do parto tende a se aproximar do mês que têm condições nutricionais mais favoráveis.

No entanto, outros autores acreditam que a causa principal desta variação é o fotoperíodo, através do seu efeito no sistema nervoso central materno. Os mecanismos envolvidos permanecem obscuros, embora Sharp (1988) tenha sugerido que a melatonina possa estar envolvida. Os estudos de Hodge *et al.* (1982) demonstraram que éguas gestantes submetidas à 16 horas de luz por dia, a partir de 1 de dezembro (no hemisfério norte), anteciparam a data do parto. Este resultado corrobora com as sugestões de Langlois

(1973), que relata que o ambiente hormonal em éguas gestantes pode ser alterado por variações no ritmo circadiano. Além disso, tem sido sugerido que a variação da luz pode ser uma causa de variação considerável na duração da gestação equina, devido à alteração da taxa de maturação fetal com a proximidade do parto (Pérez *et al.*, 2003). No estudo de Valera *et al.* (2006), conduzido na Espanha, quando o fotoperíodo foi máximo (maio a junho), a duração da gestação foi mínima. A associação entre o aumento da duração do dia, aumento da temperatura ambiental e redução da duração da gestação também foi relatada, anteriormente, por Astudillo *et al.* (1960).

O período de gestação de 79 éguas cobertas por jumentos foi de  $349,7 \pm 1,50$  dias (Jordão *et al.*, 1954). Esses períodos variaram de 324 a 379 dias. A possível influência da época do parto no período gestacional foi investigada nos grupos de dados formados nas quatro estações do ano. As gestações que terminaram durante o inverno (junho a agosto) mostraram a média mais elevada (353,3 dias), enquanto o grupo correspondente aos meses de março a maio, apresentou a menor média (344,5 dias). Entretanto, essa diferença não apresentou significância estatística. A idade da égua também não influenciou a duração do período gestacional. Neste estudo, o único fator que influenciou a duração da gestação foi a raça dos jumentos. A média referente aos jumentos da raça Brasileira foi 11,4 dias superior à demonstrada pelos jumentos da raça Italiana.

Em éguas da raça Mangalarga Marchador, o período gestacional médio foi de  $327,69 \pm 8,55$  dias, com uma variação de 303 a 349 dias, não havendo diferenças entre produtos machos ou fêmeas (Palhares, 1989), ao contrário da observação de Ropiha *et al.* (1969) de que a duração da gestação de machos foi em média 1,7 dias mais longa que a gestação de fêmeas.

Zwolinski (1960) descreveu que a gestação foi 2,3 dias mais longa na presença de produtos machos, em relação às envolvendo as fêmeas. No estudo de Valera *et al.* (2006), dentre os fatores avaliados, o sexo do potro foi o de menor influência, respondendo por apenas 0,43% da variação total da duração da gestação, sendo que esta foi cerca de dois dias superior para machos em comparação às fêmeas. Resultado similar foi demonstrado por Pérez *et al.* (2003), que observaram em éguas da raça Andaluz, uma duração da gestação de machos superior em 2 a 3 dias à gestação de fêmeas.

A descrição dos efeitos do ganhão sobre a duração da gestação é conflitante. Rollins e Howell (1951) e Zwolinski (1961) demonstraram evidências de um efeito do ganhão, enquanto Detkens (1964) não observaram relação entre ganhões e a duração da gestação. A utilização do dia da ovulação em detrimento do último serviço como marco inicial para quantificar a duração da gestação no estudo de Ropiha *et al.* (1969) pode ter contribuído para que a variação entre ganhões não se tornasse aparente. Este achado sugere que as observações anteriores podem ser advindas de diferenças na viabilidade espermática entre ganhões, e não devido à variação individual propriamente dita.

Zwolinski (1960) avaliando 4260 concepções de 867 éguas verificou efeito significativo do mês de concepção sobre o sexo dos produtos. Gestações concebidas entre a segunda metade do mês de maio e a primeira metade do mês de junho, resultaram no nascimento de mais machos do que fêmeas, enquanto concepções em outras épocas do ano resultaram no nascimento de maior proporção de fêmeas.

Acompanhando 374 nascimentos em animais da raça Mangalarga Marchador, Palhares (1989) relataram uma proporção de 51,9% de fêmeas e 48,1% de machos ( $p>0,05$ ). De maneira semelhante, Valera *et al.* (2006) quando de observações de éguas

das raças Andaluz e Árabe, registraram o nascimento de 50,9 e 44,9% de produtos machos, e de 49,1 e 55,1% de fêmeas, respectivamente.

Na Nova Zelândia, Cameron *et al.* (1999) avaliaram o efeito da condição corporal de éguas selvagens, no momento da concepção e durante a gestação, sobre o sexo do potro nascido. Como resultado observaram diferenças na condição corporal de éguas que pariram machos e fêmeas ( $p<0,05$ ), o que levou os autores a classificarem a condição corporal materna, no momento da concepção, como um bom preditor do sexo do produto (regressão logística,  $X^2=7,89$ ,  $df=1$ ,  $p<0,01$ ). Ao utilizarem a classificação da condição corporal proposta por Carrol e Huntingdon (1988), em uma escala de 1 a 5, éguas com condição corporal 2 pariram maior proporção de fêmeas, enquanto éguas com condição corporal 2,5 conceberam mais machos. Para os outros escores de condição corporal não foram observadas diferenças.

Já a condição corporal na metade da gestação, apesar de sua correlação com a condição corporal no momento da concepção ( $r=0,36$ ), não diferiu ( $p>0,05$ ) entre éguas paridas de indivíduos do sexo masculino ou feminino. No mesmo estudo, os autores citados anteriormente, não observaram influência da ordem de parto (primíparas e múltiparas) na distribuição dos sexos dos produtos nascidos. Também diferenças entre éguas que pariram ou não na estação anterior não foram observadas (Cameron *et al.*, 1999).

Variações entre raças, entre ganhões ou mesmo variações ambientais respondem por diferentes períodos gestacionais. No entanto, todos os autores são unânimes em considerar as variações individuais, além das variações entre gestações de uma mesma fêmea.



### 3.2.2. Eficiência reprodutiva em éguas gestando embriões muares

O êxito da produção de muares depende tanto do emprego de bons jumentos como de éguas com bom potencial, incluindo a idade, capacidade reprodutiva, tamanho e conformação (Jordão *et al.*, 1954).

A literatura é escassa no que diz respeito à eficiência reprodutiva de éguas destinadas à produção de muares. Jordão *et al.* (1954) obtiveram taxa de parto de apenas 35,9% em éguas mantidas sob regime de monta a pasto com jumentos, ao longo de 14 estações de monta, no Posto de Monta de Colina – SP. Neste estudo, observaram que a eficiência reprodutiva destas fêmeas foi inferior à de éguas gestando embriões equinos, que responderam por uma taxa de concepção de 49,3%. Uma limitada produção de gonadotrofina coriônica equina (eCG) pelas éguas que gestam embriões híbridos (Pigoniowa, 1963), devido ao desenvolvimento inadequado dos cálices endometriais associado a sua regressão prematura (Allen *et al.*, 1987), tem sido responsabilizada pela menor fertilidade das éguas utilizadas para a produção de muares, como observado por Jordão *et al.* (1954).

Boeta e Zarco (2005) compararam a incidência de perda gestacional em éguas gestando embriões muares e equinos até os 150 dias de gestação. Em seu estudo, observaram incidência superior de perdas para as fêmeas inseminadas com jumentos (36,8%), quando comparadas às éguas cobertas por garanhões (21,4%). Vale salientar, ainda, a ausência de morte embrionária no grupo de éguas gestando embriões muares, uma vez que todas as perdas ocorreram no período fetal, ou seja, após os 40 dias de gestação, com um período médio de ocorrência das perdas, de 93 dias de gestação. Entretanto, no grupo de fêmeas gestando embriões equinos constatou-se que metade das perdas ocorridas se deram no

período embrionário e a outra metade no período fetal.

Os autores observaram que as concentrações plasmáticas de eCG demonstraram, como esperado, valores significativamente menores do que os encontrados em éguas gestando embriões equinos. Além disso, as concentrações de eCG retornaram à níveis basais mais precocemente nas éguas gestando embriões muares. Dessa forma, as baixas concentrações de eCG nessas éguas não foram suficientes para estimular a função lútea das mesmas, de forma que não se observou aumento dos níveis de progesterona entre os dias 35 e 49, como ocorreu nas gestações equinas.

Uma incidência de aborto de 10,4% foi observada em éguas cobertas por monta natural com jumentos, superior à observada em éguas cobertas por garanhões, de 7,8% (Garg e Manchanda, 1986). Entretanto, Ferreira *et al.* (1993) ao avaliarem as perdas ocorridas entre os 30 e 50 dias de gestação em éguas inseminadas com sêmen de jumento diluído e resfriado, observaram uma taxa de perda de 5,5%, similar à descrita na literatura para éguas gestando embriões equinos.

Mais recentemente, Canisso (2008) avaliou a fertilidade do sêmen asinino congelado, utilizando dois diluidores, para a inseminação de éguas. Obteve taxas de perdas embrionárias entre os dias 13 e 25, e entre os dias 25 e 35 da gestação de 18,75% e 61,53% para o diluidor de Nagase e Graham (1964) modificado, e de 6,67% e 78,57% para o diluidor de Martin *et al.* (1979), que não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. Apesar de não ter sido descrita a incidência de perdas gestacionais tardias, as taxas de MEP, até os 35 dias de gestação, obtidas por Canisso (2008) foram superiores às descritas na literatura, para éguas inseminadas ou cobertas com garanhões.

### 3.3. Aspectos relativos à gestação equina

#### 3.3.1. Reconhecimento materno da gestação

Entende-se como “reconhecimento materno da gestação”, as diferentes estratégias empregadas pelas espécies domésticas para garantir a manutenção da vida embrionária e a função secretória do corpo lúteo, de forma a manter o útero em seu estado progesteronal para suportar a gestação (Short, 1969).

Em éguas, assim como observa-se em outras espécies, a fertilização ocorre na ampola da tuba uterina (Steffenhagen *et al.*, 1972). Segundo Battut *et al.* (1998) a entrada do oócito fertilizado no útero se dá por volta de 144 a 168 horas após a ovulação. Neste sentido, Freeman (1992) e Weber (1995) demonstraram que ao alcançar o estágio de mórula compacta, no quinto dia de seu desenvolvimento, o embrião começa a secretar quantidades significativas de prostaglandina E2 (PGE2), cuja função local é relaxar a musculatura lisa circular da tuba. A partir desse evento, ocorre a entrada do embrião no útero em aproximadamente 24 horas.

O embrião se torna um blastocisto no momento ou logo após adentrar o corno uterino, no sexto dia após a ovulação (Betteridge *et al.*, 1982). O termo blastocisto é usado quando uma cavidade central se forma (a blastocele), ficando a massa celular interna (MCI) estabilizada em um pólo. É formado pelas camadas ectoderma, mesoderma, endoderma e cápsula, sendo esta última de ocorrência exclusiva na espécie equina. A MCI irá formar o disco embrionário a partir do qual se formará o corpo do embrião. A membrana que envolve o blastocisto é uma camada única de células ectodérmicas denominadas trofoblasto, que origina o córion, futuro componente fetal da placenta.

A cápsula do blastocisto, resistente e de natureza glicoproteica, desenvolve-se entre o trofoblasto e a zona pelúcida e envolve o embrião entre os dias 6,5 a 22 (Betteridge, 1989), durante os processos de migração, fixação e orientação embrionária. Aditivamente, ela tem a função de regular o suprimento de nutrientes para o embrião. Em função da sua carga eletrostática negativa e de sua configuração em glicocálix (Oriol *et al.*, 1993), a superfície externa da cápsula é um local de aderência de uma série de proteínas e componentes das secreções das glândulas endometriais, durante a movimentação do embrião pelo útero. Tal fato resulta no aumento do peso da cápsula entre a expansão do blastocisto nos dias 7 e 8 e a sua imobilização, aos 17 dias pós-ovulação (Oriol *et al.*, 1993a). Por volta do dia 21 a cápsula começa a desintegrar-se (Enders *et al.*, 1991), em consequência, provavelmente, da ação de enzimas proteolíticas secretadas pelo trofoblasto e/ou pelo epitélio endometrial (Denker *et al.*, 1987), permitindo a aderência física do conceito ao endométrio.

Envolto pela cápsula glicoproteica, o embrião equino é impossibilitado de se rearranjar e se alongar entre os dias 10 e 14 pós-ovulação como ocorre em suínos e nos ruminantes, a fim de permitir um contato íntimo do trofoblasto com uma área razoável do endométrio, no corno uterino gravídico (Wooding *et al.*, 1982). Diferentemente, na espécie equina, o embrião permanece esférico e completamente livre, movendo-se continuamente por todo o útero, propellido por fortes contrações peristálticas do miométrio (Ginther, 1983ab, 1985), induzidas por liberações rítmicas de PGF2 $\alpha$  e PGE2 produzidas pelo embrião (Stout e Allen, 2001a). Estudos sugerem que o embrião alcança o corpo uterino no dia oito (Griffin *et al.*, 1993), quando inicia o processo de migração transuterina, que persiste até os dias 15 a 17 (Ginther *et al.*, 1983b; Leith e Ginther, 1984). A seguir, diante de um repentino aumento do tônus

miometrial, fixa-se no eventual local de implantação, na base de um dos cornos uterinos (van Niekerk, 1965; Ginther, 1983b).

Dentre os prováveis fatores estimuladores do útero produzidos pelo embrião, estariam incluídos o estrógeno, a progesterona, a prostaglandina F2alfa (PGF2 $\alpha$ ) e a prostaglandina E2 (PGE2). O estímulo de origem embrionária parece ter meia-vida curta. Assim, verificou-se que a contratilidade uterina no corpo do útero, decresceu gradativamente após a vesícula ter saído deste local, durante um período de avaliação de uma hora (Griffin *et al.*, 1993). Algumas substâncias são secretadas pelo concepto durante o período de mobilidade, tais como estrógenos (Zavy *et al.*, 1979), prostaglandinas (Watson e Sertich, 1989), e vários polipeptídeos (Fazleabas *et al.*, 1983). As prostaglandinas parecem estar mais relacionadas com o estímulo para as contrações uterinas.

O fenômeno da migração transuterina é uma adaptação evolucionária que garante ao embrião o sinal de reconhecimento materno por toda a extensão do útero (Allen, 2000), garantindo a luteostase necessária para a manutenção da gestação (Ginther, 1983b; Sharp, 2000; Stout e Allen, 2001). A restrição cirúrgica do embrião equino em um terço da área total uterina é seguida por luteólise e um retorno ao cio no período esperado do ciclo estral (Allen, 2000; Sharp, 2000). Além de essencial para o reconhecimento materno da gestação, a migração transuterina permite ao concepto utilizar mais efetivamente as secreções endometriais, que constituem a única fonte de nutrientes antes da formação da placenta definitiva (Ginther *et al.*, 1985).

A fixação é definida como a cessação da mobilidade embrionária (Ginther *et al.*, 1983b) e ocorre aproximadamente no 15º dia em pôneis e no 16º em éguas (Ginther *et al.*, 1985). O embrião se fixa usualmente próximo à flexura uterina na porção caudal

de um dos cornos (Ginther *et al.*, 1983b). Foi postulado que apesar das contrações uterinas, a fixação embrionária ocorre neste local, em virtude de ser a flexura o melhor local de impedimento intraluminal à mobilidade embrionária (Ginther *et al.*, 1995).

A orientação é o processo no qual ocorre a rotação da vesícula embrionária para uma posição ventral, oposta à implantação mesometrial. É um processo importante no momento da transição entre o saco vitelino e a alantoide e na formação do cordão umbilical. Os mecanismos envolvidos na orientação da vesícula embrionária dentro do lumen uterino, em animais de grande porte, ainda não estão completamente elucidados. Na espécie equina, tem sido postulado que o processo ocorre entre os dias 16 a 21 de gestação (Ginther *et al.*, 1998).

A natureza do sinal através do qual o concepto equino informa bioquimicamente à égua a sua presença, de forma a evitar a luteólise, ainda não está esclarecida. Nos ruminantes, ocorre a síntese e liberação de grandes quantidades de um hormônio proteico, o interferon tau (IFN- $\tau$ ) pelo trofoblasto do embrião entre os dias 10 e 16 após a ovulação, visando suprimir o desenvolvimento de receptores de ocitocina no endométrio (Lamming *et al.*, 1995). Esse mecanismo previne que a ocitocina secretada pelo corpo lúteo se ligue aos receptores endometriais e inicie a liberação pulsátil de PGF2 $\alpha$ , com a conseqüente luteólise. Ainda não se sabe se há produção de uma molécula do tipo interferon pelo embrião equino, com propriedades confirmadamente luteostáticas (Baker *et al.*, 1991). Entretanto, estudos recentes verificaram que o embrião equino expressa genes para o interferon-delta, o qual pode estar envolvido na prevenção da luteólise (Cochet *et al.*, 2009), similarmente ao interferon-tau dos ruminantes (Roberts *et al.*, 2008).

Similarmente ao embrião suíno, o embrião equino começa a secretar estrógeno desde os sete dias pós-ovulação, acreditando-se, inicialmente que essa seria a substância responsável pela sinalização embrionária ao útero materno (Allen, 2000; Allen, 2001; Raeside *et al.*, 2002, 2004; Hafez e Hafez, 2004). Embora o estrógeno sozinho não seja o responsável pela sinalização materna da gestação em equinos, ele parece estar envolvido. Altas concentrações de estrógeno, associadas ao aumento da progesterona levam a um aumento considerável da produção de uteroferrinas (Ellenberger *et al.*, 2008), podendo ser estas proteínas responsáveis pelo reconhecimento materno da gestação (Sharp, 2000).

O entendimento das interações moleculares que ocorrem entre o conceito e o endométrio é de extrema importância, haja vista as altas taxas de morte embrionária nesse período. Supõe-se que o embrião envie sinais de sua presença no período compreendido entre sua chegada ao útero e a fixação do mesmo, na base de um dos cornos uterinos (ou seja, entre os dias 7 a 17). É provável que o sucesso no estabelecimento e manutenção da gestação na égua envolva uma combinação de diferentes eventos sinalizadores, como parte de um permanente “diálogo” materno-fetal.

### 3.3.2. Endocrinologia da égua gestante

#### 3.3.2.1. Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

Em 1930, Cole e Hart demonstraram que em ratas impúberes, a aplicação intraperitoneal de soro obtido de éguas gestantes, estimulava o crescimento ovariano. Os autores coletaram soro sanguíneo de 64

éguas em diferentes etapas da gestação e perceberam que o soro coletado antes do 37º dia não produzia efeitos gonadais nas ratas. O estímulo máximo foi observado quando o soro era proveniente de éguas entre 43 e 80 dias de gestação, havendo um estímulo mínimo quando coletado após os 210 dias de gestação. À esta substância presente no soro de éguas gestantes com efeito estimulador dos ovários, deu-se o nome de gonadotrofina sérica da égua gestante (PMSG).

Inicialmente, acreditava-se ser a PMSG produzida pela hipófise, o que foi contradito mais tarde pela comprovação da origem fetal desta glicoproteína, produzida pelas células da cinta coriônica que invadem o endométrio formando os cálices endometriais (Allen e Moor, 1972). Pela sua origem trofoblástica, a substância passou a ser denominada gonadotrofina coriônica equina (eCG).

Em relação à outros hormônios gonadotróficos, a eCG apresenta a singularidade de possuir atividade folículo estimulante (FSH) e luteizante (LH) na mesma molécula (Papkoff, 1974; Stewart *et al.*, 1976). Devido à estas propriedades, tem sido utilizada para a manipulação do ciclo estral e indução de superovulação em várias espécies de importância econômica, principalmente em ovinos e suínos.

A gonadotrofina coriônica foi purificada tanto na égua quanto na jumenta (Clegg *et al.*, 1982), podendo ser encontrada em híbridos destas duas espécies. Entretanto, sua sequência de aminoácidos não é idêntica entre as duas. Assim, este hormônio é denominado segundo a espécie que a produziu. Portanto, quando oriunda de éguas, denomina-se gonadotrofina coriônica equina (eCG), e quando oriunda de jumentas, gonadotrofina coriônica de jumenta (jCG).

### 3.3.2.1.1. Formação e destruição dos cálices endometriais

Muitas das alterações endocrinológicas ocorridas durante a gestação na égua parecem ser exclusivas ao gênero *Equus*. Um fato bastante importante é o desenvolvimento, função, manutenção e finalmente destruição dos cálices endometriais, que são estruturas transitórias produtoras da gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Allen, 1969; Allen, 1975a; Ginther, 1992; de Mestre *et al.*, 2008).

Após a ovulação, o corpo lúteo primário passa a produzir progesterona. Na égua gestante, esta produção atinge concentrações plasmáticas de 6 a 10 ng/mL no 5º dia após a ovulação, que continuam a elevar-se até os dias 35 a 40, quando a eCG começa a ser produzida pelos cálices endometriais (Lunn *et al.*, 1997; Allen *et al.*, 2002b).

A égua possui uma placenta do tipo epiteliocorial, que representa a forma menos invasiva de placentação dentre as espécies domésticas (Lunn *et al.*, 1997). No entanto, uma subpopulação de células trofoblásticas altamente invasivas se diferencia entre os dias 25 e 36 de gestação para formar uma faixa avascular composta por tecido altamente compacto, que circunda o concepto esférico na região entre o alantoide em formação e o saco vitelínico em regressão (Ginther, 1992; Lunn *et al.*, 1997; Adams e Antczak, 2001; Wooding *et al.*, 2001; de Mestre *et al.*, 2008). Esta cinta coriônica (van Niekerk, 1965) é formada por células binucleadas hiperplásicas, que se multiplicam e adquirem movimento ameboide por volta dos dias 36 a 38. Neste período, ao contrário das demais células trofoblásticas não invasivas, as células da cinta coriônica se desprendem do córion e invadem o endométrio materno (Allen e Moor, 1972; Lunn *et al.*, 1997; Wooding *et al.*, 2001), passando pelas células do epitélio luminal até alcançar a membrana basal (Allen *et al.*, 1973).

No endométrio materno, as células binucleadas da cinta coriônica secretam proteinases, que auxiliam no ataque à matriz extracelular, e conseqüentemente na sua inserção no endométrio (Vagnoni *et al.*, 1995; Roser, 1999). Durante a invasão, estas células sequestram e fagocitam as células epiteliais rompidas e desorganizadas (Ginther, 1992). A migração persiste até alcançarem as glândulas endometriais, onde iniciam a secreção de eCG, e proliferam até formar estruturas macroscópicas. Tais protuberâncias, descritas originalmente por Schauder (1912) e denominadas cálices endometriais por Cole e Goss (1943), são vistas por volta do dia 40 de gestação, como uma série de placas esbranquiçadas na superfície do endométrio, organizadas ao redor do concepto, na base do corno uterino grávidico (Clegg *et al.*, 1954; Allen, 1975; Ginther, 1992; Lunn *et al.*, 1997; Adams e Antczak, 2001).

Segundo Ginther (1992), a formação histológica das células do cálice endometrial pode ser dividida em cinco fases: fixação, invasão, fagocitose, migração e diferenciação. A cinta coriônica inicialmente consiste em um envoltório raso que vai se alongando como estruturas vilosas, por volta do dia 33 de gestação (de Mestre *et al.*, 2008). A fixação ocorre no dia 37 e consiste numa ligação entre as interdigitações da superfície das células coriônicas alongadas com as criptas correspondentes do epitélio endometrial. As células trofoblásticas invadem o endométrio para a penetração do citoplasma nas células epiteliais (Allen, 1982).

Quando a invasão é concluída, as células não invasivas da cinta coriônica sofrem necrose. As células invasivas começam a sofrer uma série de mudanças morfológicas e funcionais: perdem a habilidade de migrar, adquirem contorno mais circular e hipertrofiam significativamente (Allen, 1982). O citoplasma se torna mais pálido e um segundo núcleo eucromático se desenvolve, resultando na típica célula de

cálice madura (Allen, 1982). As mesmas mudanças morfológicas são observadas em células coriônicas cultivadas *in vitro* (Allen e Moor, 1972), e parecem estar associadas ao início da secreção de eCG e à perda da habilidade mitótica (Allen, 1982). O epitélio endometrial invadido é destruído, porém se regenera rapidamente e recobre a face luminal dos cálices endometriais por volta do dia 45, deixando este tecido completamente separado da placenta (Lunn *et al.*, 1997).

A porção apical das glândulas endometriais, na área onde se formaram os cálices, fica obstruída; no entanto, as suas porções basais permanecem intactas, aumentando de tamanho e se distendendo progressivamente, em função da proliferação das células e do acúmulo de suas secreções. No interior de cada glândula acumula-se grande quantidade de carboidratos, que se depositam na superfície dos cálices endometriais até por volta do dia 70 de gestação (Stewart *et al.*, 1995; Roser, 1999).

Poucos vasos sanguíneos permanecem no tecido dos cálices, embora vasos linfáticos sinuosos se desenvolvam no estroma endometrial sob os mesmos, sendo a eCG secretada por esta via até alcançar a circulação materna (Amoroso, 1952).

A capacidade de secreção hormonal das células dos cálices, é máxima entre os dias 55 e 70 de gestação, período em que os mesmos são vistos como estruturas circulares esbranquiçadas, com 3 a 5 cm de diâmetro, distribuídas na superfície do endométrio, na base do corno uterino gestante (Allen, 1982; Stewart *et al.*, 1995; Roser, 1999). O desenvolvimento dos cálices endometriais e a quantidade de eCG que secretam, dependem, dentre outros fatores, da configuração do endométrio no momento da invasão pela cinta coriônica (Allen, 2000), do genótipo do embrião e da compatibilidade entre os tecidos embrionários e maternos (Knobil e Neil, 1998).

Durante a invasão das células da cinta coriônica no endométrio, as células com composição genética diferente da materna provocam uma reação inflamatória na égua. Por volta dos dias 36 a 38, quando se inicia a invasão, um grande número de linfócitos se acumula no estroma subepitelial do endométrio. Enquanto as células da cinta coriônica formam os cálices endometriais, os linfócitos desaparecem, retornando em grande número por volta do dia 50 de gestação (Allen *et al.*, 1993). Entre os dias 60 e 80, os cálices endometriais apresentam intensa atividade, mesmo com a imunidade celular, composta em sua maioria por linfócitos CD4+ e CD8+ (Kydd *et al.*, 1991), macrófagos e eosinófilos (Grünig *et al.*, 1995). Os linfócitos formam uma massa celular separando cada cálice endometrial do tecido materno adjacente (Allen, 1982).

Esta reação imunológica materna é induzida pela expressão de antígenos paternos do complexo de histocompatibilidade maior tipo I (MHC-I) pelas células invasivas da cinta coriônica. Estes antígenos estimulam uma forte resposta humoral por parte da mãe, que os reconhece como não próprios. A resposta imunológica parece ocorrer de maneira similar em todas as éguas, incluindo as primíparas (Donaldson *et al.*, 1990). Os anticorpos persistem por todo o período gestacional, sendo que a sua concentração sérica aumenta marcadamente durante as etapas iniciais da gestação.

A partir dos 80 a 90 dias de gestação, ocorre a regressão dos cálices endometriais, associada a uma intensa resposta leucocitária materna (Lunn *et al.*, 1997; Sharp, 2000; Adams e Antczak, 2001; Wooding *et al.*, 2001). Em uma gestação resultante do cruzamento intraespécie de equinos, a reação imune destrói completamente os cálices endometriais até os dias 140 a 160, sem afetar a placenta ou o feto (Allen *et al.*, 1973; Allen, 1993; Stewart *et al.*, 1995). O processo de destruição resulta da necrose de todo o cálice, de forma que nos dias 120 a 150, o tecido necrótico e as secreções

aderidas a ele, desprendem-se da superfície do endométrio para o lúmen uterino. Os cálices necróticos situados na região dorsal do corno uterino gravídico se insinuam no alantocórion dando origem a estruturas pedunculadas que se projetam para o interior da cavidade alantoidiana, as denominadas bolsas alantocoriônicas (Lunn *et al.*, 1997; Allen, 2000).

A resposta imune humoral e celular materna produzida contra os antígenos de histocompatibilidade do embrião equino não compromete a gestação, uma vez que nem a placenta nem o feto são afetados (Allen *et al.*, 1973; Allen, 1993; Roser *et al.*, 1999). Tal condição pode ser explicada pela reação imune se restringir aos cálices endometriais, apesar de que antígenos paternos MHC-I estão presentes tanto na placenta quanto no embrião. Adams e Antczak (2001) demonstraram que o trofoblasto consegue desviar a resposta imune materna, sugerindo um mecanismo imunomodulador durante a gestação, que impede a destruição do embrião. Na maioria das espécies, incluindo a equina, o trofoblasto não expressa antígenos MHC-I e MHC-II, o que dificulta o seu ataque pelo sistema imune (Allen, 1982; Allen *et al.*, 1993; Stewart *et al.*, 1995).

#### 3.3.2.1.1.1. Efeito do genótipo fetal no desenvolvimento dos cálices endometriais

Estudos conduzidos ao longo dos anos envolvendo gestações inter e intraespécies de equídeos, demonstraram que o genótipo fetal e o ambiente uterino exercem grande influência no desenvolvimento dos cálices endometriais, e por consequência na secreção de eCG. Isso está relacionado ao grau de desenvolvimento e a capacidade de invasão da cinta coriônica do embrião (Bielanski *et al.*, 1956; Clegg *et al.*, 1962; Allen, 1969, 1975, 1982a; Allen *et al.*, 1987, 1993).

Em uma gestação intraespécie de equinos, os cálices endometriais produzem eCG e estimulam a função lútea a partir dos 35 a 40 dias de gestação, produzindo altas concentrações desse hormônio (20-300 UI/ml) até os dias 120 a 150, quando os cálices são destruídos pelo sistema imune materno. Em algumas éguas a secreção de eCG chega a se prolongar além do dia 150 da gestação (Stewart *et al.*, 1995).

Por outro lado, gestações híbridas entre diferentes espécies de equídeos, produzem alterações que resultam em importantes diferenças na formação, manutenção e destruição dos cálices endometriais. Assim, éguas gestantes de embriões muares exibem concentrações séricas de eCG de seis a dez vezes menores que as éguas gestando embriões equinos. Além disso, o período de secreção da eCG é mais curto, sendo que o hormônio se torna indetectável na corrente sanguínea antes dos 80 dias de gestação (Boeta e Zarco, 2005; Acosta, 2008). Entretanto, jumentas gestantes de embriões bardotos (jumenta x cavalo) apresentam concentrações séricas de jCG, cinco a oito vezes superior à produzida quando gestam embriões asininos, sendo que a atividade gonadotrófica persiste até por volta dos 120 dias de gestação (Allen, 1982).

Quando de um cruzamento interespécie de uma égua com um jumento, os cálices endometriais que se formam das células coriônicas do embrião muar são destruídos muito rapidamente, entre os 50 a 80 dias de gestação, sendo que as concentrações de eCG sofrem uma redução prematuramente ou nem sequer chegam a elevar-se (Allen *et al.*, 1993b). Tal condição parece dever-se à uma resposta muito eficiente do sistema imune da égua contra os antígenos de histocompatibilidade do jumento, expressos pelas células coriônicas do embrião híbrido. Assim, há um acúmulo de linfócitos ao redor dos cálices endometriais muito maior nestas gestações do que observa-se em gestações intraespécies (Allen, 1982).

A cinta coriônica que se desenvolve em um embrião muar é mais estreita e menos compacta quando comparada com a camada espessa e densa que se forma ao redor de um concepto equino. Consequentemente, menos células da cinta coriônica podem invadir o endométrio, de forma que os cálices endometriais formados serão inevitavelmente menores e menos desenvolvidos (Allen, 1982). Por outro lado, em gestações de embriões bardotos, desenvolve-se uma cinta coriônica espessa e larga, maior que a formada em uma gestação intraespécie de um embrião asinino. Consequentemente, os cálices endometriais formados são maiores e mais ativos, produzindo concentrações séricas elevadas de eCG (Allen, 1982; Allen *et al.*, 1993b).

Outra característica observada nas gestações híbridas de equídeos é a resposta leucocitária materna, que se apresenta mais precoce e agressiva. Allen (1975c), estudando o processo em gestações intraespécies de equinos, observou o aparecimento de poucos linfócitos logo após a invasão das células da cinta coriônica, por volta do 38º dia de gestação. A partir desse momento, houve um aumento lento e progressivo em seu número. Após os 90 dias de gestação, os leucócitos que se acumularam inicialmente na periferia dos cálices endometriais, começaram a invasão e fagocitose das células do tecido, culminando com a sua destruição por volta dos 130 a 150 dias de gestação.

Entretanto, em éguas gestando embriões muares, observa-se, já no 45º dia da gestação, a invasão e fagocitose das células, por um grande número de leucócitos acumulados na região dos cálices endometriais, ao contrário do que observa-se nas gestações intraespécies de equinos, quando estas células permanecem confinadas à periferia do cálice. Consequentemente, aos 60 dias de gestação, os cálices endometriais apresentam-se completamente necróticos. A mesma resposta leucocitária exacerbada é

observada em gestações de bardotos, embora nestes casos, quando comparados com as gestações muares, os linfócitos possuem uma menor capacidade de penetração e destruição dos cálices endometriais. Assim, os linfócitos permanecem por mais tempo na periferia dos cálices, sem invadir os mesmos, o que possibilita a secreção mais prolongada de eCG (Allen, 1982; Roser, 1999). Não existe até o presente, uma explicação clara para o comportamento diferencial das células de defesa.

Na gestação muar, os linfócitos invadem e destroem rapidamente os cálices endometriais, enquanto na gestação de um bardoto, as células parecem impossibilitadas de penetrar no tecido precocemente. Segundo Allen (1982), a diferença parece residir no desenvolvimento diferencial dos cálices no endométrio. O tecido menos desenvolvido dos cálices muares talvez permita a invasão dos linfócitos mais facilmente, ao contrário dos cálices bardotos, densos, compactos, e portanto, mais resistentes à entrada das células de defesa. Outro fator a ser considerado é que os cálices bardotos desenvolvem-se em um ambiente com maiores concentrações séricas de progesterona, quando comparados aos muares. Assim, tecidos de asininos podem ser consideravelmente mais antigênicos para equinos e vice-versa. Também, tecidos asininos e equinos podem ser igualmente antigênicos um para o outro, porém, mais antígenos de histocompatibilidade podem ser expressos nas células dos cálices endometriais de muares do que nas dos bardotos (Allen, 1975c). Apesar das suposições, não está claro o motivo da maior habilidade das células dos cálices endometriais dos bardotos resistirem ao ataque imunológico. Talvez todos os fatores expostos contribuam para isso aditivamente.

Ressalta-se que a destruição prematura dos cálices endometriais em gestações muares não significa impossibilidade de levar a gestação a termo. Em um estudo conduzido por Boeta e Zarco (2005) observou-se um



elevado número de éguas cobertas com jumentos que mantiveram a gestação normalmente, apesar das baixas concentrações séricas de eCG, que se mantiveram basais por todo o período (Acosta, 2008).

### 3.3.2.1.2. Estrutura bioquímica da gonadotrofina coriônica equina (eCG)

A gonadotrofina coriônica equina pertence à família dos hormônios glicoproteicos, que inclui o hormônio luteinizante (LH), o folículo estimulante (FSH), o hormônio estimulante da tireoide (TSH) e a gonadotrofina coriônica humana (hCG). Enquanto os hormônios LH, FSH e TSH são produzidos na adenohipófise, a eCG e a hCG, como o próprio nome indica, são produzidas por células placentárias especializadas (Murphy e Martinuk, 1991; Roser, 1999; Allen, 2001).

Quimicamente a eCG é uma glicoproteína heterodimérica de alto peso molecular (72 KDa), similarmente ao hormônio luteinizante (LH), constituída de duas subunidades distintas,  $\alpha$  e  $\beta$ , ligadas de forma não covalente (Licht *et al.*, 1979). A subunidade  $\alpha$  dos hormônios LH, FSH e TSH, é comum em muitas espécies e nos humanos. Já a subunidade  $\beta$  difere entre os hormônios, estando relacionada com a atividade biológica distinta de cada um (Couture *et al.*, 1994).

A subunidade  $\alpha$  da eCG possui 96 aminoácidos e tem 70 a 80% de homologia com a subunidade  $\alpha$  das gonadotrofinas de outros mamíferos (Christakos e Bahl, 1979).

A sequência de aminoácidos da subunidade  $\beta$  da eCG é idêntica à da subunidade  $\beta$  do LH equino (Bousfield *et al.*, 1987; Sugino *et al.*, 1987), de forma que ambas se ligam ao mesmo receptor LH/GC (Stewart e Allen, 1979). A subunidade  $\beta$  de ambos os hormônios é codificada pelo mesmo gene

(Sherman *et al.*, 1992), sendo constituída por 149 aminoácidos (Legardinier *et al.*, 2005a). No entanto, como são produzidos em locais diferentes, possuem padrões distintos de glicosilação das cadeias polipeptídicas e, por isso, apresentam diferenças em suas atividades biológicas e de meia-vida na circulação (Legardinier *et al.*, 2005b).

A eCG é a mais glicosilada de todas as glicoproteínas hipofisárias e placentárias dos mamíferos (Couture *et al.*, 1993), com 45% de sua massa constituída por carboidratos (Papkoff, 1978; Damm *et al.*, 1990; Legardinier *et al.*, 2005b), estando este valor apenas em sua unidade  $\beta$  (Bahl *et al.*, 1984; Sugino *et al.*, 1987; Damm *et al.*, 1990).

Éguas gestantes distintas e em diferentes períodos da gestação apresentam uma concentração variável de carboidratos na molécula de eCG. Além disso, moléculas de eCG que contêm maiores quantidades de carboidratos apresentam maior atividade biológica (Murphy e Martinuk, 1991).

Tanto a subunidade  $\alpha$  quanto a  $\beta$  são glicosiladas em sítios de união com a asparagina (glicosilação-N) e treonina (união-O) (Legardinier *et al.*, 2005b). Os pontos de glicosilação são similares aos observados em outros hormônios glicoproteicos (Bahl *et al.*, 1984; Baezinger e Green, 1988), embora haja diferenças na quantidade e composição dos carboidratos (Baezinger e Green, 1988). Os oligossacarídeos localizados em cada sítio de união incluem moléculas de manose, galactose, N-acetil glucosamina e ácido siálico. É importante destacar o alto conteúdo (14%) de ácido siálico, responsável pela longa meia vida da eCG na circulação (Bousfield *et al.*, 1987; Murphy e Martinuk, 1991).

A subunidade  $\beta$  da eCG e do LH equino apresenta diferenças quando comparada com a subunidade  $\beta$  do LH de outras espécies, sendo esta uma das principais diferenças, representada por uma sequência adicional de 30 aminoácidos localizados no terminal

carboxílico da subunidade  $\beta$  da eCG e do LH equino. Esta sequência está restrita aos primatas e equinos, justificando o fato de que a administração destes hormônios a outras espécies surte nelas efeitos similares aos do hormônio folículo estimulante (FSH) (Nakav *et al.*, 2005).

Uma das diferenças mais marcantes entre os hormônios LH e eCG é a alta proporção de terminações constituídas por ácido siálico na eCG (Manning *et al.*, 1987), responsável por sua longa meia-vida, como já mencionado. Além disso, a afinidade pelo receptor comum LH/CG, parece ser influenciada pelo conteúdo de carboidrato em cada um dos hormônios (Murphy e Martinuk, 1991). É possível que a carga negativa devido ao alto conteúdo de ácido siálico exerça um efeito repulsivo, diminuindo a afinidade da eCG pelo receptor em comparação ao LH (Couture *et al.*, 1993). Assim, a eCG se liga aos receptores com apenas 2,5 a 3,9% de afinidade em relação ao LH (Martinuk *et al.*, 1991). Entretanto, as concentrações da eCG durante a gestação equina são altas (1-8  $\mu\text{g/ml}$ ) quando comparadas às concentrações de LH (5-30 $\text{ng/ml}$ ), de forma a garantir uma boa ocupação dos receptores, apesar de sua baixa afinidade pelos mesmos (Knobil e Neil, 1998).

#### 3.3.2.1.3. Secreção da gonadotrofina coriônica equina (eCG)

A primeira detecção da eCG na circulação sanguínea coincide com a invasão das células da cinta coriônica no endométrio materno. O hormônio está presente no soro de éguas gestantes a partir dos 30 dias de gestação (Daels *et al.*, 1995), sendo que a sua concentração se eleva a partir do 45º dia de gestação (Meenakshi *et al.*, 2006), atingindo um pico por volta dos 60 dias de gestação (Allen, 1969; Ginther, 1992a; Squires, 1993), após o que alcança níveis basais próximo dos 200 dias de gestação

(Roser e Lofstedt, 1989; Knobil e Neil, 1998).

Apesar da eCG ligar-se avidamente aos mesmos receptores das gonadotrofinas nos tecidos gonadais das outras espécies de mamíferos, possui apenas 1-2% da capacidade ligante das gonadotrofinas hipofisárias equinas (Stewart e Allen, 1979). Essa baixa taxa de ligação da eCG aos tecidos equinos é sem dúvida um mecanismo de proteção, visando-se evitar a superestimulação dos ovários da égua toda vez que ela se tornar gestante (Allen, 2001).

Os fatores que regulam a secreção de eCG pelos cálices endometriais são desconhecidos. Não foram identificados nos cálices grânulos de secreção como ocorre nas células dos gonadotrofos, sendo que o seu padrão de secreção não é pulsátil como nas gonadotrofinas hipofisárias. Assim, parece que a eCG é secretada de forma constante, à medida que vai sendo produzida (Roser, 1999). A administração de estrógenos e andrógenos à éguas pôneis não alterou a concentração da eCG circulante, indicando que a secreção do hormônio não está sujeita a controle por mecanismo *feedback* (Nett e Pickett, 1979).

Um estudo recente apontou o fator de crescimento epidermal (EGF), como regulador da síntese da subunidade  $\alpha$  da eCG através da proteína quinase C (PKC) (Theingi e Wolfe, 2002). O mesmo estudo demonstrou que o EGF está presente na corionlantoide entre os dias 30 até 150 de gestação, exatamente o período correspondente à fase ativa dos cálices endometriais. Desta forma, parece que o EGF tem um papel fundamental na implantação e desenvolvimento dos cálices (Theingi e Wolfe, 2002).

A morte do feto após o 35º dia de gestação não afeta a atividade dos cálices endometriais, tampouco a secreção de eCG, indicando que os mesmos estão programados para funcionar de forma

autônoma, independentemente da gestação (Allen *et al.*, 1993a).

#### 3.3.2.1.3.1. Fatores que afetam a secreção de eCG

A concentração de eCG detectável na circulação varia entre raças e entre indivíduos (Day e Rowlands, 1947; Bielanski *et al.*, 1956; Hamilton *et al.*, 1973). O tamanho da égua é um importante fator a ser considerado. De uma maneira geral, animais de maior porte apresentam concentrações inferiores àsquelas observadas nos animais de menor porte. Pode ser que o maior volume de sangue presente nos animais maiores, proporcione uma maior diluição do hormônio (Allen, 1982).

Ao compararem fêmeas equinas com asininas, observou-se menores concentrações circulantes de eCG nas últimas (Allen *et al.*, 1985). Há que se ressaltar o efeito do genoma paterno sobre a quantidade de eCG, bem como sobre a duração de sua secreção (Allen, 1982; Clegg *et al.*, 1982). Gestações muares produzem menores quantidades de eCG em função do desenvolvimento incipiente dos cálices endometriais, o que não se verifica na gestação de bardotos, quando os cálices são grandes e densos e, conseqüentemente, produtores de grandes quantidades de eCG (Allen, 1982).

Em 1981, Leão analisou as concentrações séricas de eCG em três grupos oriundos do cruzamento entre equídeos: jumenta x jumento; égua x jumento e égua x garanhão. Observou-se nos três grupos que a eCG começou a se elevar por volta do 30° dia de gestação, atingindo um pico ao redor do 70° dia, para depois decrescer. Observou-se, ainda, uma concentração mínima, na égua coberta por jumento por volta dos 190 dias de gestação; na jumenta coberta por jumento ao redor do 210° dia e finalmente, na égua coberta por garanhão por volta do 230° dia,

sendo que as concentrações da eCG permaneceram assim, ao longo de todo o período final da gestação. O mesmo foi observado anteriormente por Clegg *et al.*, (1962) e Allen (1969).

Apesar disso, as baixas concentrações de eCG e progesterona em éguas gestando embriões muares não afetou a sobrevivência embrionária, uma vez que não houve diferença entre as éguas que levaram ou não a gestação à termo (Boeta e Zarco, 2005). Este achado corrobora as conclusões de Allen (1984, 2001) de que o eCG não é necessário para a manutenção da gestação na égua.

Mesmo sob baixas concentrações de progesterona, a taxa de crescimento da vesícula embrionária em éguas inseminadas com jumentos foi similar à observada em vesículas embrionárias de éguas inseminadas com garanhões, e àsquelas reportadas por outros autores em éguas e pôneis (Ginther, 1986). Embora concentrações mínimas de progesterona possam ser necessárias para a manutenção da gestação na égua (Allen, 1984, Bergfelt *et al.*, 1992), este limiar pode ser consideravelmente menor que aquele normalmente atingido durante gestações interespecies. A baixa concentração de progesterona em éguas gestando embriões muares pode ser, na maioria dos casos, suficiente para atingir este limiar exigido para a manutenção da gestação e crescimento embrionário normal (Boeta e Zarco, 2005).

Em cruzamentos intraespecies, o reprodutor exerce também grande influência no que se refere ao padrão de secreção de eCG. Assim, Murphy *et al.* (1985) trabalhando com 227 gestações de 177 éguas cobertas ao acaso com 12 garanhões, observou uma variação importante na concentração circulante de eCG entre os dias 40 a 100 de gestação, sendo esta variação atribuída ao reprodutor. A partir dos resultados obtidos, o autor classificou os 12 garanhões utilizados em

dois grupos: os que produziram gestações com altas concentrações de eCG e aqueles que produziram gestações com baixas concentrações do hormônio.

A ordem de parto também pode influenciar a produção de eCG. Assim, estudo conduzido por Day e Rowlands (1947) mostrou que o pico da concentração sérica de eCG e a taxa de recuperação total do hormônio declinaram em um período de quatro anos, em um grupo de éguas pôneis cobertas por quatro anos consecutivos com o mesmo garanhão. No entanto, Allen (1970) não observou este efeito em três éguas pôneis estudadas, as quais apresentaram discreto aumento nas concentrações séricas de eCG na segunda de duas gestações consecutivas do mesmo garanhão.

É importante considerar a existência de uma enorme variação individual no que diz respeito à produção e secreção de eCG (Martinuk *et al.*, 1990a). Algumas éguas produzem pouco, enquanto outras praticamente não produzem eCG, independentemente da espécie do reprodutor utilizado (Boeta e Zarco, 2005; Acosta, 2008). Allen (1969) mensurou picos de eCG variando de 10 a 180 UI/ml em um grupo de dez éguas Puro Sangue nos mesmos estágios da gestação.

A grande variação observada quanto à quantidade de eCG produzida, relaciona-se, provavelmente, ao número total e ao volume dos cálices endometriais que se desenvolvem em cada égua, dependendo da quantidade de tecido da cinta coriônica capaz de invadir o endométrio nos dias 36 a 38 da gestação (Allen, 1982). O grau de convolução e a consequente área de superfície do endométrio disponível para o desenvolvimento e estabelecimento dos cálices irão influenciar na sua futura capacidade de secreção de eCG. Endométrios que apresentam grandes criptas localizadas entre pregas adjacentes disponibilizam menor área de contato com a cinta coriônica, oferecendo,

consequentemente, menor área disponível à invasão celular (Allen, 1982). Considerando-se essa grande variação individual, talvez fosse importante selecionar éguas que apresentam alta produção de eCG, as quais teriam teoricamente maiores chances de levar uma gestação a termo (Castro, 2008).

Day e Rowlands (1947) verificaram uma redução nos níveis de eCG após gestações sucessivas, quando caíram para cerca de 1/6 do valor original após cinco parições consecutivas em um determinado animal observado. Creutzberg (1955) também encontrou diferenças significativas quanto à concentração de eCG em gestações consecutivas, embora atribuisse essas diferenças não somente às gestações consecutivas, mas também à idade das éguas.

O número de fetos presentes no útero também influencia a produção de eCG, com maiores concentrações sendo observadas em éguas com gestações gemelares (Rowlands, 1949 citado por Castro, 2008).

#### 3.3.2.1.4. Papel da eCG na gestação equina

Os cálices endometriais produzem grandes quantidades de eCG, que chegam a atingir em um dado momento da gestação, uma concentração sérica de 2.000.000 UI (Ginther, 1992). Esta quantidade é capaz de estimular os ovários de 1000 vacas ou de 100.000 coelhas (Ginther, 1998).

Em resposta à secreção de eCG, o corpo lúteo primário aumenta em tamanho (Squires *et al.*, 1974; Bergfelt *et al.*, 1989), eleva a produção de progesterona e inicia a produção de estradiol (Daels *et al.*, 1991). Durante a gestação, a eCG estimula a expressão de RNAm para a síntese de StAR, a principal proteína responsável pelo transporte de colesterol para o interior da mitocôndria, sendo este passo fundamental

para a esteroidogênese (Watson *et al.*, 2000; Christenson e Devolo, 2003). Tem sido estabelecida uma associação positiva entre as concentrações da proteína StAR e a produção de progesterona, enfatizando-se a sua importância como limitante na produção desse hormônio (Kerban *et al.*, 1999).

Nos ovários, além do estímulo luteotrópico ao corpo lúteo primário, a eCG induz a formação dos chamados corpos lúteos secundários, ou ainda, acessórios (Squires *et al.*, 1974). Esse efeito biológico é determinado pela ligação da eCG aos receptores de LH. Os corpos lúteos secundários se formam a partir de ondas de FSH, que ocorrem a cada 10 a 12 dias durante a gestação, estimulando o crescimento folicular (Urwin e Allen, 1982). A partir do 35º dia de gestação, a presença de eCG estimula a ovulação, ou luteinização dos folículos dominantes formados nas ondas de crescimento folicular (Allen e Stewart, 2001).

Dessa forma, a eCG tem sido responsabilizada pelo aumento das concentrações plasmáticas de progesterona observada após 35 a 40 dias de gestação (Allen, 1984, 1987; Bergfelt *et al.*, 1989). No início da gestação equina, as concentrações séricas de progesterona variam de 8 a 15 ng/ml entre os dias 6 a 14 pós-ovulação. A partir dos 35 dias, as concentrações se elevam em função do estímulo ao corpo lúteo primário e à formação dos corpos lúteos secundários.

Entretanto, nem todas as éguas gestantes formam corpos lúteos secundários, e mesmo naquelas que os formam, existe grande variabilidade com relação ao seu número e dia de formação, o que sugere não se tratar o evento, de um processo essencial para a manutenção da gestação. Apesar de não essencial, não se pode negar a importância da formação dos corpos lúteos secundários e de sua fonte extra de progesterona. Desta forma, pode-se afirmar que, sem dúvida, contribuem para a probabilidade de êxito na

gestação (Allen, 1984; Daels *et al.*, 1998). Acosta (2008) confirmou que éguas mantendo embriões muares, apresentam menores concentrações circulantes de eCG, que mesmo assim induziram a formação de corpos lúteos acessórios. No entanto, ocorreram mais tardiamente e em menor número.

A principal fonte de progesterona nos primeiros 50 dias da gestação é o corpo lúteo primário, o qual mantém sua produção hormonal até os 120 a 150 dias de gestação. Os corpos lúteos acessórios, através do estímulo luteotrópico contínuo da eCG, contribuem com a produção de progesterona, que pode chegar à concentrações de 25 ng/ml ou mais. A concentração sérica de progesterona decresce progressivamente até os dias 100 a 150 da gestação, momento em que os cálices endometriais são destruídos e cessa a fonte de eCG. Como consequência, ocorre regressão do corpo lúteo primário e dos corpos lúteos secundários (Murphy e Martinuk, 1991). Os folículos que ovularão ou sofrerão luteinização, resultando na formação dos corpos lúteos secundários, desenvolvem-se antes da formação da cinta coriônica, demonstrando-se, assim, que a foliculogênese independe da secreção de eCG (Allen, 1975).

Além da progesterona, os corpos lúteos secretam outros progestágenos, como a 5-alfa-diidropregmolona (5 $\alpha$ DHP) e a 3-beta-5-pregmolona, cujas elevações séricas coincidem com as de progesterona no início da gestação (Daels *et al.*, 1998).

Também foi estabelecida uma relação entre o início da produção de eCG na égua gestante e o aumento da produção lútea de andrógenos (Albrecht e Daels, 1997). Antes do dia 35 de gestação, as concentrações séricas de androstenediona são baixas (100 pg/ml), elevando-se a partir deste dia até atingir valores que chegam a 600 pg/ml aos 45 dias de gestação. A secreção máxima de eCG, entre os dias 60 e 70 de gestação

coincide com o pico de produção de androstenediona, o que permitiu correlacionar-se este aumento com o estímulo lúteo exercido pela eCG (Daels *et al.*, 1998). Um segundo incremento nas concentrações de androstenediona é observado após o 80º dia da gestação, tendo sido responsabilizadas as gônadas fetais por esta ativação (Hasewaga *et al.*, 2001).

Apesar das concentrações plasmáticas de testosterona na égua serem baixas durante os primeiros quatro meses de gestação, quando comparadas às de progesterona, a sua secreção, bem como de outros andrógenos e estrógenos, segue um padrão que coincide com a síntese e secreção de eCG (Rodger *et al.*, 1998).

Tanto o corpo lúteo primário como os acessórios persistem por um tempo que ultrapassa a metade da gestação, até por volta dos dias 160 a 180, período em que a placenta já está desenvolvida e pronta para assumir a produção de progesterona, necessária para a manutenção da gestação até seu término (Amoroso *et al.*, 1948). Isso demonstra que a eCG tem um papel fundamental como fonte temporária de progesterona e estradiol.

Assim como a gonadotrofina coriônica humana (hCG), a eCG é uma molécula rica em ácido siálico. Em humanos, Borland *et al.* (1975) demonstraram que a hCG é parte integrante, ou total, da camada fibrinoide de sialoproteínas que reveste as células citotrofoblásticas da placenta humana, encobrindo antígenos fetais de origem paterna. Dessa forma, parece razoável que a eCG constitua uma barreira imunoprotetora semelhante entre as superfícies materna e fetal, atuando parcialmente mas não completamente para encobrir antígenos de origem paterna expressos nas células dos cálices endometriais, de forma a retardar a resposta imunológica e prevenir a destruição do feto (Allen, 1975c).

### 3.3.2.1.5. Dinâmica folicular ovariana na gestação

Em um estudo conduzido por Evans e Irvine (1975) observou-se a presença de ondas de FSH a cada 10 ou 12 dias durante o início da gestação, assim como ocorre durante o ciclo estral da égua. Observou-se, ainda, uma onda de FSH entre os dias 24 a 27 da gestação, com duração de 2 a 3 dias, ocorrendo um segundo pico aos 38 dias de gestação. Nos meses subsequentes da gestação, relatou-se a persistência de ondas de FSH a cada 10 dias.

Evans e Irvine (1975) também observaram a ocorrência de uma onda de FSH entre os dias 25 a 27, embora não tenham confirmado a presença de uma onda no dia 38, como no estudo anterior. Outros estudos também não detectaram um padrão regular de liberação das ondas de FSH durante a gestação (Urwin *et al.*, 1982). Tais divergências podem ser atribuídas às irregularidades na coleta de sangue para as dosagens hormonais, bem como à falta de associação entre as concentrações de FSH e as ondas foliculares, em cada animal estudado.

Determinações seriadas da concentração de FSH hipofisário, em éguas cíclicas e gestantes, mostraram um padrão típico de liberação hormonal a cada 10 a 12 dias. Este padrão rítmico de secreção é controlado essencialmente pela duração da luminosidade do dia, associada à secreção folicular de inibina, ativina e/ou estradiol, embora não tenha sido influenciado pela retroalimentação negativa da progesterona. A secreção hipofisária de FSH se mantém nos primeiros dias da gestação de forma a permitir um crescimento folicular até os dias 18 a 23. Esses folículos não ovulam na ausência de um pico de LH e tendem a regredir. Uma nova onda de FSH é liberada 10 ou 12 dias depois, coincidindo com o início da secreção da eCG, a qual atua induzindo a maturação, ovulação ou

luteinização do folículo dominante (Allen *et al.*, 1993a).

O desenvolvimento de folículos médios (10 a 20 mm) e grandes (>20 mm), bem como o diâmetro dos últimos aumentam significativamente durante o início da gestação. O número de folículos eleva-se nos dias 10 a 40-60, decrescendo para valores bem baixos aos 180 a 200 dias de gestação (Ginther, 1992). Squires *et al.* (1974), demonstraram a ocorrência de poucos folículos grandes 18 dias após o estro em éguas gestantes, em relação às não gestantes. No entanto, observou-se maior número de folículos com diâmetro superior a 10 mm no dia 30 do que nos dias 10 ou 18, demonstrando-se novamente a ocorrência de crescimento folicular no início da gestação. O diâmetro dos folículos foi superior aos 60 dias de gestação, em relação a qualquer outro dia avaliado.

O grau de desenvolvimento folicular, entre os dias 10 e 68 pós-ovulação, não diferiu entre éguas gestantes e histerectomizadas, colocando em dúvida o papel da eCG no desenvolvimento folicular. Entretanto, o corpo lúteo primário regrediu em tamanho e atividade secretória precocemente em éguas histerectomizadas em comparação às gestantes. Além disso, observou-se que as concentrações de progesterona se elevaram mesmo antes da formação do corpo lúteo acessório, sugerindo uma participação da eCG na manutenção da atividade endócrina do corpo lúteo primário (Squires e Ginther, 1975), mas não no desenvolvimento folicular durante o período gestacional.

Desta forma, o FSH hipofisário é o responsável pelo estímulo ao crescimento folicular durante a gestação, excluindo-se dessa ação, o componente tipo FSH da eCG. No entanto, é o componente tipo LH da eCG que luteiniza e/ou estimula a ovulação dos folículos dominantes das ondas foliculares que ocorrem a cada 10 a 12 dias até a metade da gestação, responsáveis pela formação dos corpos lúteos secundários

(Squires e Ginther, 1975). A combinação dos hormônios hipofisários e da eCG confere um potente estímulo luteotrópico aos ovários maternos.

Nesse sentido, Ariás (2011) ao tratar éguas gestantes de embriões muares e equinos com um antagonista do GnRH, observou que o número de folículos de diâmetro superior à 20 mm nas éguas cobertas por garanhões foi maior quando comparado à éguas cobertas por jumentos, da semana 6,5 até a semana 9 ( $p < 0,05$ ). No primeiro grupo (égua x garanhão), o maior número de folículos de diâmetro superior à 20 mm coincidiu com o período de tratamento com o antagonista do GnRH, o que não foi verificado no segundo grupo (égua x jumento), no qual verificou-se redução gradual do número de folículos maiores que 20 mm, até chegarem ao completo desaparecimento, entre as semanas 9,5 e 12,5 da gestação.

Vale salientar, ainda, que Allen (1975b) observou grande influência da estacionalidade reprodutiva sobre a atividade ovariana durante a gestação. Sendo o experimento conduzido no hemisfério norte, as éguas que conceberam entre os meses de abril e julho, apresentaram alta atividade ovariana aos 40 dias de gestação, cujo pico coincidiu com os níveis máximos de eCG circulantes. Apesar disso, a atividade ovariana foi mantida após a queda relativa das concentrações de eCG. Entretanto, nas éguas que conceberam entre julho e fevereiro, os aumentos de eCG não foram acompanhados de um incremento marcante na atividade ovariana, como observado nas éguas descritas anteriormente e que conceberam nos meses de abril e julho. Com base nessas observações, Allen (1975b), considerou que a eCG atuaria de forma sinérgica com as gonadotrofinas de origem pituitária, sendo estas responsáveis pelo estímulo primário para a atividade ovariana nas éguas gestantes.

No mesmo sentido, Meira *et al.* (1998) monitoraram a atividade ovariana durante a

gestação em jumentas e detectaram folículos de diâmetros entre 21-30 mm em todos os animais, entre os dias 30 e 60. Além disso, observaram folículos com diâmetro superior a 30 mm entre os dias 36 e 60. Portanto, nesta espécie, houve desenvolvimento folicular considerável, especialmente durante o segundo mês de gestação.

#### 3.3.2.1.6. Formação dos corpos lúteos primário e secundários

Em 1573, Cointer relatou pela primeira vez a presença de uma estrutura sólida e de coloração amarelada no ovário. Entre 1628 e 1694, Malpighi descreveu a estrutura ovariana, à qual chamou de *corpus luteum*, que significa “corpo amarelo”.

O corpo lúteo é uma estrutura endócrina e transitória, formada no ovário imediatamente após a ovulação. Sua formação ocorre a partir do crescimento, diferenciação, reorganização e luteinização das células da teca e da granulosa remanescentes do folículo ovulatório (Davis e Rueda, 2002).

A função do corpo lúteo está relacionada à síntese de vários hormônios, sendo o principal deles a progesterona. A cada ciclo estral, a secreção de progesterona na circulação sistêmica visa criar um ambiente uterino adequado e receptivo ao embrião, caracterizado por um processo de quiescência da contratilidade miometrial e pelo desenvolvimento glandular do endométrio, fundamentais para a manutenção da gestação.

Na espécie equina, após a ovulação, as células da teca interna sofrem atresia, enquanto as da granulosa diferenciam-se em células luteínicas que se convertem nas principais células produtoras de esteroides (Van Niekerk *et al.*, 1975). Apesar de não participarem da produção de progesterona e estradiol, as células da teca sintetizam a

maior parte dos andrógenos que serão aromatizados pelas células da granulosa (Sirois *et al.*, 1991).

O hormônio luteinizante (LH) é essencial para o desenvolvimento e funcionamento normal do corpo lúteo, na maioria dos mamíferos, sendo que em algumas espécies também participam o hormônio do crescimento, a prolactina e o estradiol (Niswender *et al.*, 2000; Diaz *et al.*, 2002). A alta afinidade do LH por seus receptores nas células luteais permite que o corpo lúteo se mantenha ativo, mesmo sob baixas concentrações circulantes de LH, durante o diestro e a gestação precoce (Gliogli *et al.*, 2006).

Um aspecto essencial do desenvolvimento do corpo lúteo é a sua alta taxa de proliferação celular e de crescimento tecidual. O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é provavelmente o principal regulador da proliferação das células endoteliais do corpo lúteo durante seus primeiros dias de vida. A expressão do VEGF em folículos pré-ovulatórios é induzida pelo LH (Charnock-James e Smith, 1998). Outros fatores de crescimento estão envolvidos, como o fator de crescimento dos fibroblastos; o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-1) e o fator de crescimento semelhante à heparina (Grazul-Bilska, 1992; Suh *et al.*, 1992).

A proliferação das células endoteliais é essencial para a neovascularização que ocorre durante o desenvolvimento do corpo lúteo, formando uma extensa rede de capilares capaz de suprir esta estrutura com uma taxa de fluxo sanguíneo que excede a de qualquer outro tecido (Charnock-James e Smith, 1998). Este estreito contato com a circulação se deve às altas demandas metabólicas do corpo lúteo (Niswender *et al.*, 2000).

Os corpos lúteos secundários se formam devido às ondas de FSH que ocorrem a cada 10 ou 12 dias durante a gestação, estimulando o crescimento folicular (Urwin



e Allen, 1982). No entanto, estes folículos não alcançam completa maturidade e ovulam pela supressão da liberação de LH causada pelo *feedback* negativo exercido pelas altas concentrações de progesterona circulantes, oriundas do corpo lúteo primário sobre o hipotálamo. Entretanto, a partir do 35º dia de gestação, a presença da eCG, com sua atividade biológica similar à do LH, estimula a ovulação ou luteinização de alguns folículos dominantes formados previamente (Allen e Stewart, 2001). Squires e Ginther (1975) observaram, em média, a formação de 5,3 e 3,3 corpos lúteos secundários aos 80 e 100 dias de gestação, respectivamente, sendo estes mais numerosos aos 160 dias de gestação.

O corpo lúteo primário e os corpos lúteos secundários sofrem regressão aproximadamente ao mesmo tempo, entre os dias 160 e 180 da gestação (Holtan *et al.*, 1979), sendo mantidos durante todo este período pela ação luteotrópica da eCG (Allen e Stewart, 1993).

#### 3.3.2.1.7. Produção de hormônios esteroides

Os hormônios esteroides são sintetizados pelas glândulas adrenais, gônadas, placenta, sistema nervoso central (Stocco, 2000a), e pelo tecido adiposo (Sanderson, 2006). O colesterol é o substrato inicial para a síntese de todos os hormônios esteroides, sendo produzido principalmente no fígado (Krisans, 1996) e transportado na forma de lipoproteínas para todos os tecidos esteroideogênicos.

As células esteroideogênicas do ovário são estimuladas pelo LH para iniciar a síntese de hormônios esteroides (Diaz Chico, 2004). Já as gônadas dependem da disponibilidade de colesterol para a sua conversão em pregnenolona, progesterona, andrógenos e finalmente, estrógenos (Belin *et al.*, 2000).

No ovário, as células da teca do folículo produzem grandes quantidades de andrógenos (androstenediona e testosterona), os quais se difundem até as células da granulosa, onde são utilizados para a produção de estrógenos (Mindnich *et al.*, 2004; Sanderson, 2006). As células da granulosa não produzem andrógenos, atuando apenas na produção de progesterona (Belin *et al.*, 2000).

#### 3.3.2.1.7.1. Progesterona

A biossíntese de progesterona requer a conversão de colesterol a pregnenolona e a transformação desta em progesterona. A primeira reação envolve a ação da proteína StAR, responsável pela transferência do colesterol da membrana mitocondrial externa para a interna (Belin *et al.*, 2000), onde o mesmo será convertido em pregnenolona pela enzima P450<sub>scc</sub> (Stocco, 2002b). Finalmente, ocorre a conversão da pregnenolona à progesterona pela ação enzimática da 3β-hidroxiesteroide desidrogenase (3βHSD) (Stocco, 2000a; Christenson e Devoto, 2003).

A partir de 10 a 12 horas pós ovulação, o corpo lúteo já produz grandes quantidades de progesterona, graças à elevada concentração sérica de LH no período pós ovulatório (Gigli *et al.*, 2006). Durante o primeiro mês da gestação, a produção de progesterona pelo corpo lúteo é mantida pela secreção de LH hipofisária, existindo correlação positiva entre as concentrações de LH e de progesterona entre os dias 5 a 24 da gestação (Nett e Pickett, 1979). As concentrações séricas de progesterona se elevam gradualmente até o 8º dia pós-ovulação, quando atingem valores iguais ou superiores a 7ng/ml, que diminuem a partir do dia 14, para atingir concentrações menores que 5ng/ml no dia 28 (Squires *et al.*, 1974; Holtan *et al.*, 1975).

Entre os dias 28 e 44 as concentrações de progesterona elevam-se novamente devido ao início da secreção de eCG, atingindo valores máximos por volta dos 65 dias da gestação, quando superam 15 ng/ml (Holtan *et al.*, 1975). Posteriormente, diminuem gradativamente, e atingem concentrações muito baixas entre os dias 150 e 180 (Squires *et al.*, 1974).

O efeito luteotrópico da eCG também foi demonstrado *in vitro*, quando verificou-se a produção de progesterona pelas células da granulosa proporcional ao estímulo hormonal aplicado (Knobil e Neil, 1998). No mesmo sentido, Squires *et al.* (1979) observaram que a adição de eCG no meio contendo cortes de corpos lúteos primários e secundários resultou em aumento da produção de progesterona *in vitro*.

Em jumentas, Meira *et al.* (1998) observaram que a concentração plasmática de progesterona aumentou entre os dias 0 e 10 (0,9 e 19,9 ng/mL, respectivamente), diminuindo gradualmente até o dia 30 (12,1 ng/mL). Entre os dias 30 e 40 voltaram a elevar-se (platô, com cerca de 17 ng/mL), declinando a partir de 110-160 dias (nadir de cerca de 6 ng/mL), e mantendo-se a partir daí praticamente constante, até sofrer novo aumento, apenas antes do parto. Os perfis hormonais foram geralmente similares àqueles relatados previamente para a gestação em éguas.

Holtan *et al.* (1979) demonstraram que a placenta começa a produzir quantidades suficientes de progesterona por volta do dia 70, utilizando para isso fontes maternas de colesterol (Bhavnani *et al.*, 1969, 1971; Pashen e Allen, 1979). Além disso, durante a segunda metade da gestação, uma variedade de metabólitos da progesterona, como a diidroxiprogesterona e a 20 $\alpha$ -diidroxí-5-pregnan-3-ona, predominam na circulação materna, sendo a progesterona praticamente indetectável (Short, 1959; Holtan *et al.*, 1991).

Durante as últimas 4 a 6 semanas de gestação ocorre um aumento nas concentrações plasmáticas de progestágenos, seguida por um declínio somente no período pré-parto (Haluska e Currie, 1988). Segundo Chavatte *et al.*, (1997), a pregnenolona necessária para essa produção adicional de progestágenos pela placenta é secretada pela glândula adrenal do feto. Neste período, a córtex da adrenal fetal não apresenta atividade da enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase, o que impede a transformação da pregnenolona a cortisol. Sendo assim, a pregnenolona passa para a placenta, onde é convertida em progestágenos que caem na circulação materna e fetal (Chavatte *et al.*, 1997).

Em gestações interespecíes de jumentas com garanhões equinos, gerando um bardoto, as concentrações séricas de progesterona apresentam-se bastante elevadas (valores superiores a 800 ng/ml). A principal fonte de progesterona são os ovários (Sheldrick *et al.*, 1977), sendo que os altos níveis hormonais observados estão relacionados às altas concentrações circulantes de gonadotrofina coriônica.

Entretanto, na gestação de embriões muares, resultantes do cruzamento de éguas com jumentos, os progestágenos circulantes não são afetados da mesma forma (citado em Sheldrick *et al.*, 1977). É importante considerar nesses casos, a ocorrência da regressão prematura dos cálices endometriais e conseqüente redução nas concentrações séricas de eCG, em relação ao que observa-se em gestações intraespécies ou envolvendo embriões bardotos (Allen e Stewart, 1993; Allen *et al.*, 1993b; Boeta e Zarco, 2005; Acosta, 2008). Dessa forma, a placenta não consegue produzir progesterona suficiente para manter a gestação, o que pode resultar na maior taxa de perda gestacional observada em éguas utilizadas para a produção de muares.

### 3.3.2.1.7.2. Andrógenos

Os andrógenos são produzidos constantemente nos ovários, pois constituem um passo intermediário na via metabólica que produz os estrógenos. A maior parte dos andrógenos produzidos são aromatizados para a produção de estrógenos, embora uma proporção considerável passe para a circulação sistêmica, sem que tenha ocorrido a sua conversão. A produção de andrógenos nas éguas ocorre principalmente nas células da teca, sob o estímulo do LH (Sirois *et al.*, 1991; Belin *et al.*, 2000; Donadeu e Ginther, 2002).

Tanto a pregnenolona quanto a progesterona são substratos para a formação de andrógenos pela ação da enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase (Diaz Chico, 2004). Observou-se uma relação positiva entre o início da secreção de eCG na égua gestante e um aumento na produção de andrógenos pelo corpo lúteo, associado à maior expressão lútea de P450 17 $\alpha$ -hidroxilase neste mesmo período (Albrecht e Daels, 1997). Os andrógenos mais importantes na gestação equina são a androstenediona e a testosterona.

#### - Androstenediona

Quando o substrato para a produção de androstenediona é a pregnenolona, a ação da enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase produz a 17 $\alpha$ -hidroxipregnenolona, que posteriormente é convertida a androstenediona pela enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase (3 $\beta$ HSD). Por outro lado, quando o substrato é a progesterona, a 17 $\alpha$ -hidroxilase atua formando a 17 $\alpha$ -hidroxiprogesteroa que sofrerá novamente a ação da enzima para finalmente formar a androstenediona (Diaz Chico *et al.*, 2004).

Daels *et al.* (1998) demonstraram que éguas submetidas à aplicação de eCG, entre os dias 22 a 28, e portanto, antes do início da secreção natural de eCG pelos cálices

endometriais, apresentaram aumento da secreção de androstenediona pelo corpo lúteo. Aquelas que não receberam eCG não apresentaram elevação das concentrações de androstenediona, antes do 35<sup>o</sup> dia, confirmando a capacidade da eCG para estimular a produção lútea deste hormônio.

Antes do 35<sup>o</sup> dia de gestação as concentrações séricas de androstenediona não ultrapassam 100 pg/ml, chegando a valores iguais ou superiores a 600 pg/ml no 45<sup>o</sup> dia em algumas éguas (Daels *et al.*, 1998).

Após o abaixamento das concentrações circulantes de eCG ocorre redução concomitante dos níveis de androstenediona. Entretanto, após o 80<sup>o</sup> dia da gestação, percebe-se outro incremento nos seus níveis hormonais, em função da ativação das gônadas fetais. Durante a gestação na égua, as gônadas fetais apresentam um enorme crescimento e rápida regressão ao longo do período de seu desenvolvimento (Cole *et al.*, 1933).

#### -Testosterona

A testosterona é produzida a partir da androstenediona, pela ação da enzima 17 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase (Belin *et al.*, 2000).

Inicialmente, os ovários maternos estimulados pelo LH hipofisário e também pela eCG, são responsáveis pelo aumento plasmático de testosterona. A sua elevação inicial segue o padrão descrito para a progesterona durante os dias 35 a 40 da gestação (Silberzahn *et al.*, 1984), embora as concentrações de testosterona secretadas sejam baixas em relação à secreção de progesterona. Após o 80<sup>o</sup> dia de gestação observa-se elevação nas concentrações plasmáticas de testosterona, estimuladas pelo crescimento das gônadas fetais.

Assim como ocorre com outros andrógenos e estrógenos, a secreção de testosterona segue um padrão que coincide com a síntese e secreção da eCG (Rodger *et al.*, 1998).

As concentrações séricas de testosterona foram mensuradas em uma série de trabalhos realizados nas últimas décadas (Silberzahn *et al.*, 1984). Do primeiro ao sétimo mês de gestação as suas concentrações aumentam em aproximadamente dez vezes, chegando a níveis basais próximo ao parto.

### 3.3.2.1.7.3. Estrógenos

A produção folicular de estradiol envolve tanto as células da teca quanto as células da granulosa (Gore-Langton e Armstrong, 1994; Bergfelt *et al.*, 2001). Sirois *et al.* (1991) demonstraram que as células da granulosa sintetizam progesterona, que é convertida em andrógenos pelas células da teca. Os andrógenos produzidos são finalmente aromatizados pela enzima P450-aromatase nas células da granulosa (Youg Lai e Jarrell, 1983), onde são convertidos em estradiol (Scham *et al.*, 2002).

As concentrações de estrógeno se elevam gradativamente conforme a gestação avança, sendo aparentemente estimuladas pelo LH. Nesta etapa observa-se aumento nas concentrações da proteína StAR, da enzima P450<sub>SCC</sub> e da 3 $\beta$ HSD (Belin *et al.*, 2000), responsáveis pela produção de progesterona e, também, aumento nas concentrações da enzima aromatase, responsável pela aromatização de andrógenos (Belin *et al.*, 2000) a estrógenos.

Ao realizarem cultivos de células da granulosa, Sirois *et al.* (1991) não observaram aumento da produção de estradiol em resposta ao estímulo das gonadotrofinas, na ausência de testosterona, demonstrando a necessidade da atuação das

células da teca como provedoras de andrógenos. A atividade da enzima P450 aromatase, conversora de andrógenos a estrógenos, não é estimulada pela eCG (Albrecht *et al.*, 1997).

No início da gestação, entre os dias 0 a 35, são observadas concentrações plasmáticas de estrógenos totais similares às de uma égua não gestante, em fase de diestro (Terqui e Palmer, 1979). Após o dia 35, observa-se aumento da concentração de estradiol, coincidindo com a elevação plasmática de eCG (Urwin e Allen, 1982). Um incremento posterior nas concentrações plasmáticas de estrógenos é observado após o dia 60 da gestação, oriundo da unidade feto-placentária (Terqui e Palmer, 1979).

Durante os dois primeiros meses da gestação equina, o estrógeno secretado é de origem ovariana. Assim, éguas ovariectomizadas não demonstraram elevação nas concentrações estrogênicas antes do 35º dia de gestação (Terqui e Palmer, 1979). A maior parte dos estrógenos secretados durante o período considerado são oriundos do tecido lúteo, e não dos folículos (Daels *et al.*, 1991b).

As concentrações de estrógeno totais se mantêm elevadas entre os dias 40 a 60 (3ng/ml), embora tenham atingido concentrações superiores a 10 ng/ml no 90º dia de gestação (Castro, 2008). Após o dia 90, as gônadas fetais começam a crescer e iniciam a secreção de dehidroepiandrosterona na circulação fetal, que chega à placenta, onde é aromatizada a estrógenos (Raeside e Liptrap, 1973; Pashen e Allen, 1979). Desta forma, o estradiol secretado após o dia 90 é de origem feto-placentária e não mais ovariana.

Zondek (1930) foi o primeiro a reportar que a urina de éguas gestantes continha grandes quantidades de substâncias estrogênicas. Ali, foram isolados oito estrógenos, sendo os principais, a estrona, a equilina e a equilenina.

A equilina é um pouco menos ativa que a estrona (David e De Jongh, 1934), embora seja mais ativa que a equilenina (Girard *et al.*, 1932; Savard, 1961). A estrona e a equilina são os estrógenos mais importantes da égua gestante.

Cox (1975) demonstrou um aumento significativo das concentrações plasmáticas de estrona durante o quarto mês de gestação, alcançando valores de 120 a 150 ng/ml, que foram mantidos por mais 4 ou 5 meses. Essa elevação foi associada ao aumento gradual das concentrações de equilina. Após esse aumento, observou-se uma estabilização nas concentrações estrogênicas a partir dos 180 dias de gestação, que se mantiveram constantes até o último mês de gestação.

Resultados similares foram citados por Savard (1961). Em seu estudo, o autor observou que a excreção de estrona foi máxima até os 200 dias de gestação, com um declínio logo após o parto. A equilina manteve-se elevada durante o mesmo período, alcançou um pico nos 50 dias subsequentes, após o que observou-se uma queda em sua concentração. Ficou claro que a elevação e queda das concentrações dos dois hormônios não ocorreram simultaneamente, indicando que os mesmos apresentam diferentes vias biossintéticas.

Têm sido observado, em diferentes experimentos, que os embriões equinos são capazes de sintetizar estrógenos *in vitro* aos 8 dias após a concepção (Flood *et al.*, 1979; Marsan *et al.*, 1987; Heap *et al.*, 1991). No entanto, esses estrógenos não influenciam provavelmente, a concentração de estradiol no plasma materno (Terqui e Palmer, 1979). Demonstrou-se, ainda, que embriões de éguas e jumentas possuem as enzimas necessárias para a síntese de estrógeno aos 30-43 dias de idade (Heap *et al.*, 1991).

Meira *et al.* (1998) avaliaram as concentrações plasmáticas de estradiol em jumentas e não observaram elevação em suas concentrações, quando do desenvolvimento folicular ovariano máximo

(antes do dia 60). Tal observação, indica que os folículos não têm um grande efeito sobre as concentrações plasmáticas de estradiol nas jumentas, como demonstrou-se, anteriormente, nas éguas (Daels *et al.*, 1991a). No entanto, a concentração plasmática de estradiol aumentou em todas as jumentas a partir do 90º dia de gestação, sendo originário, provavelmente, da unidade feto-placentária. Os níveis máximos de estradiol total ocorreram em jumentas entre os dias 150 e 210, acompanhados por uma redução progressiva das concentrações, que apresentaram-se muito baixas dos 270 dias de gestação até o parto. De uma maneira geral, o perfil de secreção do estradiol foi similar ao observado nas éguas gestantes, exceto nas concentrações plasmáticas de estradiol, as quais foram superiores nas jumentas. Estas altas concentrações podem ser atribuídas à mensuração de estradiol plasmático total nas concentrações, embora possa ter havido algum efeito de reação cruzada com estrona, equilina e equilenina.

### 3.3.3. Placentação equina

A placenta equina é classificada como epiteliocorial, difusa, microcotiledonária e adeciduada (Abd-Elnaeim *et al.*, 2006). Este é um tipo não invasivo de placentação, apesar da invasão endometrial que ocorre pelas células da cinta coriônica (Heap *et al.*, 1991), produzindo uma pequena resposta celular materna (Ginther, 1992; Gerstenberg *et al.*, 1999).

A classificação como placenta epiteliocorial se dá em virtude do epitélio uterino, que fica em contato com a camada do córion, apresentar, portanto, seis camadas de tecido entre os capilares maternos e fetais (endotélio, tecido conjuntivo e epitélio). Por isso, nesta espécie, não ocorre a passagem de imunoglobulinas da mãe para o feto. A classificação difusa se deve ao fato de que as vilosidades do córion estão distribuídas

uniformemente por toda a superfície do tecido materno, formando pequenos agrupamentos dos vilos aparentando microcotilédones (Allen *et al.*, 2002a). A característica adequada da placenta se deve ao fato de não ocorrer perda de tecido materno durante o parto (Ginther, 1992; Gerstenberg *et al.*, 1999).

Somente a partir do 40º dia de gestação, aproximadamente dois a três dias após a invasão do endométrio pelas células coriônicas, as células trofoblásticas não invasivas do alantocócion começam a estabelecer uma ligação de seus microvilos com o epitélio luminal do endométrio (Samuel *et al.*, 1975). Na interface materno-fetal se projetam microvilosidades do corioalantoide que se ramificam e se alongam até a superfície do endométrio, no qual também estão se formando microvilosidades. Por volta dos 60 dias de gestação, os componentes maternos e fetais estão intimamente ligados, formando uma extensa ramificação, profusamente irrigada por uma rede capilar (Samuel *et al.*, 1975; Macdonald *et al.*, 2000).

O processo de ligação continua até o dia 120 de gestação (Bracher *et al.*, 1996), quando então se formam os microplacentônios, a unidade de troca hemotrófica materno-fetal (Samuel *et al.*, 1975). O desenvolvimento das estruturas persiste por toda a gestação, de forma a maximizar a área de contato entre as camadas maternas e fetais e a troca hemotrófica de gases, nutrientes e dejetos (Heap *et al.*, 1991). Cada microplacentônio possui uma calibrosa artéria do lado materno e outra correspondente do lado fetal (Steven e Samuel, 1975).

As glândulas endometriais e suas ramificações permanecem funcionais durante toda a gestação, liberando suas secreções exócrinas ricas em proteínas no espaço compreendido entre os microplacentônios, denominado espaço areolar. As células trofoblásticas do tecido corioalantoide que recobrem a abertura das

glândulas endometriais começam a se pseudoestratificar e assim, se tornam mais adaptadas a absorver as suas secreções (Amoroso, 1952). Esta forma de nutrição histotrófica é estabelecida de modo a ajudar a suprir as altas demandas do feto em crescimento, principalmente nos dois primeiros meses de gestação (Samuel *et al.*, 1977).

O estímulo que promove a ligação das interdigitações da placenta com o endométrio e comanda todo o processo de modificação endometrial e do corioalantoide, ainda não está claro. Fatores de crescimento produzidos localmente parecem ser decisivos para a placentação. Stewart *et al.* (1995) e Lennard *et al.* (1998) descreveram a ocorrência de um súbito aumento na expressão de RNAm para o fator de crescimento epidermal (EGF), nas porções apicais das glândulas endometriais de éguas com 35 a 40 dias de gestação. Além disso, Gerstenberg *et al.* (1999) demonstraram que esse aumento não é estimulado pela eCG ou pelo estrógeno, mas apenas pelo aumento da secreção de progesterona associada à gestação. O fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF-II) é secretado pelo trofoblasto e por outros tecidos embrionários e fetais por volta do 20º dia de gestação (Lennard *et al.*, 1998). É possível que esses fatores de crescimento tenham um papel fundamental na formação da placenta equina.

É importante ponderar que para que a gestação seja levada a termo, é fundamental que a égua apresente uma placenta bem desenvolvida, de forma a estabelecer um íntimo contato com um endométrio saudável e plenamente funcional. A diminuição da área de contato materno-fetal pode resultar em morte embrionária ou aborto, ou ainda acarretar o nascimento de potros pequenos e mal desenvolvidos, com poucas chances de sobreviver (Allen e Stewart, 2001).

A gestação gemelar é uma situação típica deste fenômeno, uma vez que as

alantocórios de dois conceptos competem por espaço no endométrio onde irão se implantar. Nos casos em que os gêmeos se localizam em cornos uterinos diferentes, cada alantocório ocupa metade do útero e a gestação pode seguir com o nascimento de dois animais vivos, porém menores que o normal (Jeffcott e Whitwell, 1973). É mais comum que os dois conceptos localizem-se no mesmo corno uterino (Ginther, 1985; Morris e Allen, 2002), sendo um feto empurrado, nesses casos, para a porção anterior do corno gravídico. Geralmente, uma gestação nesta condição culmina com a morte e aborto de ambos os fetos, já que as demandas energéticas dos mesmos não podem ser supridas normalmente quando a gestação avança (Jeffcott e Whitwell, 1973).

A endometrose também pode comprometer o desenvolvimento normal do feto, já que reduz a área placentária total, comprometendo as trocas materno-fetais. Esta é uma patologia comum em éguas com idade avançada, caracterizada por mudanças degenerativas no endométrio, que incluem o acúmulo de células mononucleares, degeneração e disfunção das glândulas endometriais pela deposição de tecido fibroso ao redor das mesmas; degeneração e oclusão dos vasos sanguíneos endometriais e fibrose generalizada do estroma, combinada com atonia miometrial e estase linfática (Kenney, 1978; Schoon *et al.*, 1997).

Outro exemplo em que se percebem os efeitos da redução da área de trocas materno-fetais em éguas é a transferência de embriões de diferentes raças, de tamanhos desproporcionais. O primeiro trabalho neste sentido foi realizado por Walton e Hammond (1938), quando se comparou potros oriundos do cruzamento entre cavalos da raça Shire e pôneis Shetland. Dos dois potros nascidos vivos, percebeu-se que o resultante do cruzamento de uma égua pônei Shetland com um garanhão Shire apresentou metade do tamanho do potro oriundo do cruzamento de uma égua Shire com um pônei Shetland. O menor tamanho uterino da

égua pônei limitou o desenvolvimento do potro. Além disso, a diferença entre os tamanhos dos dois produtos persistiu pela vida adulta dos mesmos.

### **3.4. Perdas gestacionais**

#### **3.4.1. Morte embrionária**

Apesar dos consideráveis avanços na reprodução equina durante os últimos 20 anos, a morte embrionária permanece pouco compreendida e representa uma importante causa de perdas econômicas na criação de cavalos (Morris e Allen, 2002).

A morte embrionária em éguas é definida, apesar de não haver um consenso na literatura, como a perda gestacional que ocorre da fertilização até os 40 dias de gestação, o que corresponde ao momento de transição do estágio embrionário para o estágio fetal de desenvolvimento do concepto (Ginther, 1992). A perda gestacional que ocorre a partir dos 40 dias é definida então como morte fetal ou aborto.

O diagnóstico de perda embrionária e o reconhecimento dos fatores que contribuem para sua ocorrência tomaram grande impulso com o uso da ultrassonografia. Utilizando-se a palpação transretal, as incidências estimadas de morte embrionária e perda fetal em éguas situavam-se entre 7% e 16% (Bain, 1969; Merkt e Gunzel, 1979). Através de exame ultrasonográfico, realizado entre 11 e 50 dias de gestação, variou entre 5% e 24% (Chevalier e Palmer, 1982; Ginther *et al.*, 1985; Woods *et al.*, 1987).

O diagnóstico de MEP é feito por palpação transretal e exames ultrasonográficos seriados, quando verifica-se a ausência da vesícula embrionária, após, pelo menos, uma identificação positiva, ou, em alguns casos, quando observam-se alterações da morfologia da mesma, tais como redução do seu diâmetro, irregularidades do contorno e ausência de batimentos cardíacos do

embrião a partir de 25 dias (Chevalier e Palmer, 1982; Ginther *et al.*, 1985). Outros indicativos são a presença de líquido uterino, a movimentação prolongada da vesícula e o crescimento lento da mesma. Morte embrionária antes de 20 dias de gestação pode ocorrer sem que essas anormalidades sejam observadas (Ginther *et al.*, 1985). O diagnóstico ultrassonográfico é realizado geralmente a partir dos 11 dias de gestação. Para o estudo das perdas no período anterior a 11 dias, utilizam-se técnicas de reprodução assistida como a transferência de embriões, transferência de oócitos e o cultivo embrionário *in vitro* (Ball *et al.*, 1987).

Vários estudos têm mostrado que a incidência de morte embrionária em éguas situa-se entre 5 a 30%. Vários fatores são apontados como responsáveis pela ocorrência da MEP, como gestação gemelar (Bergfelt *et al.*, 1992; Ball, 1993); nutrição (Belonge *et al.*, 1975; van Niekerk e Morgenthal, 1982); ingestão de plantas estrogênicas e efeito do fotoperíodo (Swerczek, 1980); uso de monta natural ou inseminação artificial (Moberg, 1975); lactação e “cio do potro” (Merkt e Gunzel., 1979); endometrites e outras infecções do sistema genital (Day, 1940; Kenney, 1978; Merkt *et al.*, 1979); anormalidades cromossômicas e deficiências hormonais (van Niekerk e Morgenthal, 1982); hormônios esteroides (Villahoz, 1985); falha no reconhecimento materno da gestação e secreção insuficiente de eCG (Allen, 1984; Boeta e Zarco, 2005; Acosta, 2008); fatores imunológicos (Liu e Shivers, 1982); e ainda uma alta incidência relacionada à individualidade do garanhão (Platt, 1973).

Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011) estimaram entre 7 e 15% a incidência de morte embrionária, considerando-se, neste caso, as perdas ocorridas até os 100 dias de gestação. Von Lepel (1975) observou uma taxa de perda embrionária de 8,9% na Alemanha Ocidental.

Estudo conduzido por Villahoz *et al.* (1985) avaliou 356 éguas gestantes até o dia 50 da gestação, em duas estações de monta consecutivas. Observaram uma ocorrência de 17,3% de morte embrionária, sendo 77,1% antes dos 35 dias de gestação. No período de 15 a 35 dias houve maior incidência de morte embrionária entre os 15 e 20 dias (26,2%) e entre 30 e 35 dias (29,5%).

A incidência real de morte embrionária antes dos seis dias de gestação é desconhecida. Ball *et al.* (1986) sugeriram que a maior parte de MEP em éguas inférteis ocorre na tuba uterina, sendo que alguns estudos confirmaram que de 5 a 30% dos oócitos fertilizados resultam em embriões que morrem na tuba (Ball *et al.*, 1987; Carnevale e Ginther, 1995).

Papa *et al.* (1998) ao acompanharem a gestação de 128 éguas Puro Sangue Inglês e Quarto de Milha, com o intuito de investigar a ocorrência de MEP, observaram uma taxa de perda de 13,3%. Concluíram que o principal fator envolvido seria algum grau de comprometimento do endométrio (endometrite), afastando a possibilidade de deficiência hormonal.

Tem sido observada uma alta taxa de morte embrionária quando de inseminações realizadas em períodos acima de 12 ou 18 horas pós-ovulação (Koskinen *et al.*, 1990).

Os fatores que podem contribuir para a ocorrência de perdas gestacionais na égua foram classificados como intrínsecos, extrínsecos e embrionários. Fatores intrínsecos incluem doença endometrial, deficiência de progesterona, idade materna, categoria reprodutiva da égua, e o momento da inseminação/cobertura em relação à ovulação. Os fatores extrínsecos incluem estresse, nutrição, estação/clima, individualidade do garanhão e/ou processamento e manipulação do sêmen, bem como a manipulação para técnicas de reprodução assistida. Finalmente, os fatores embrionários estão relacionados com



anormalidades cromossômicas e outras características inerentes ao embrião (Ball, 1988).

#### 3.4.1.1. Fatores intrínsecos à morte embrionária

##### 3.4.1.1.1. Doença uterina

Infecções uterinas são consideradas importantes causas de perda embrionária em éguas (Hughes e Loy, 1975) e baixas taxas de concepção (Watson, 2000). Devido à natureza multifatorial desse processo, recentemente, foi proposta sua subdivisão em quatro categorias, baseando-se na sua etiologia e fisiopatologia, sendo elas: (1) endometrose (endometrite crônica degenerativa), (2) doenças sexualmente transmissíveis, (3) endometrite persistente pós cobertura (EPPC), e (4) endometrite infecciosa crônica (Troedsson, 1999 e Watson, 2000). Éguas com histórico de endometrite apresentam taxas de perda embrionária superiores àquelas que não possuem esse histórico (Woods *et al.*, 1987).

Após a cópula ocorre uma inflamação transitória fisiológica no útero equino (Hughes e Loy, 1969; Kotilainen *et al.*, 1994; Katila, 1995). O processo inflamatório é importante para remover espermatozoides mortos, plasma seminal e contaminantes uterinos antes que o embrião chegue ao útero, aproximadamente cinco dias após a ovulação. Em resposta ao sêmen, neutrófilos, imunoglobulinas e proteínas do sistema complemento migram para o útero, observando-se uma resposta máxima dentro de 8 a 12 horas após a cobertura (Katila, 1995).

As éguas que removem os contaminantes do útero diminuindo a endometrite pós-cobertura dentro de 24 a 48 horas são consideradas resistentes. Em contraste, as éguas susceptíveis são incapazes de remover

completamente os contaminantes do útero em tempo hábil, tendo por isso, altas taxas de mortalidade embrionária e baixas taxas de concepção (Mattos *et al.*, 1999).

Éguas que apresentam falhas nos mecanismos de limpeza da resposta inflamatória uterina pós cobertura desenvolvem endometrite persistente, que resulta em problemas de fertilidade (LeBlanc *et al.*, 1998; Zent *et al.*, 1999). A inflamação que persiste além de 36 horas, gera acúmulo de líquido intrauterino, tornando o útero um ambiente inóspito para o embrião no momento em que o mesmo o adentra, no quinto dia pós-ovulação, e quando o corpo lúteo se torna sensível à ação da prostaglandina F2 $\alpha$  (Adams *et al.*, 1987). Além disso, o fluido patológico pode afetar a fertilidade através do prejuízo à motilidade e viabilidade espermática (Squires *et al.*, 1989; Troedsson *et al.*, 1998). Éguas que apresentam resposta inflamatória aguda associada à retenção de líquido intrauterino durante o diestro têm maiores chances de sofrer perda embrionária (Adams *et al.*, 1987; Carnevale e Ginther, 1992).

Um fator importante para a limpeza uterina é a posição do útero dentro da cavidade abdominal da égua. Com o aumento da idade e do número de partos, o útero adquire posição mais cranioventral no abdômen. Isto é incrementado pela perda do suporte estrutural caudal do sistema genital e pelo estiramento do ligamento largo. O menor padrão de propagação e da intensidade da contração miometrial leva ao esvaziamento uterino insuficiente (LeBlanc *et al.*, 1998; LeBlanc, 2003).

Ginther *et al.* (1985) observaram uma associação entre endometrite e perda embrionária entre os dias 11 e 15 pós-ovulação, em 18,2% das éguas põeis estudadas. Os autores concluíram que essas perdas ocorreram provavelmente devido à luteólise prematura associada à endometrite, corroborando com os achados de Woods *et*

*al.* (1987), que diagnosticaram endometrite em 60% das éguas que apresentaram morte embrionária.

Papa *et al.* (1998) avaliaram 17 éguas que sofreram perda embrionária. A maioria delas apresentava comprometimento endometrial, sendo que nove apresentavam inflamação aguda ou crônica do endométrio, duas com fibrose periglandular e seis uma combinação de ambos os processos patológicos. Os autores concluíram, portanto, que o processo inflamatório endometrial é a maior causa de morte embrionária na espécie equina. Neste mesmo estudo, avaliou-se também o diâmetro das vesículas embrionárias, percebendo-se que as mesmas eram menores aos 16 dias pós-ovulação nas éguas que apresentaram morte embrionária, quando comparadas com as demais. Os mesmos resultados foram demonstrados por Ginther (1979).

A endometrite crônica é caracterizada pela presença de linfócitos em determinadas áreas do estroma endometrial. Pode se desenvolver em resposta à qualquer alteração endometrial, como no caso de uma gestação ou a partir de uma endometrite infecciosa, por exemplo (Vanderwall e Newcombe, 2007).

Segundo Ball *et al.* (1987), as endometrites crônicas parecem não causar morte embrionária, já que éguas apresentando inflamações crônicas foram capazes de manter o desenvolvimento embrionário inicial. Neste estudo, blastocistos morfológicamente normais foram transferidos para o útero de éguas jovens, com alterações endometriais mínimas, ou para o útero de éguas mais velhas, com extensas alterações patológicas. Não foram demonstradas diferenças quanto às taxas de sobrevivência e de perda embrionária entre os dois grupos experimentais. Dessa forma, os resultados indicaram que anormalidades uterinas presentes em éguas idosas, como a fibrose periglandular e endometrites crônicas, não resultam em aumento das perdas

embrionárias. Carnevale e Ginther (1995) apontam a qualidade do oócito como o principal fator relacionado à maior taxa de perda embrionária nas éguas mais velhas, como tem sido demonstrado em trabalhos envolvendo a recuperação e transferência de embriões (Ball *et al.*, 1987; Carnevale e Ginther, 1995; Vanderwall e Newcombe, 2007).

A dilatação cística é uma alteração endometrial não inflamatória de origem glandular ou linfática, com maior incidência em éguas mais velhas, o que é um fator potencialmente conflitante quando se estuda o efeito dos cistos na fertilidade. Grandes cistos (acima de 3,0 cm) podem atrapalhar a mobilidade do conceito, impedindo-o de sinalizar adequadamente a sua presença, de forma a inibir a secreção de prostaglandina F2 $\alpha$ . Como consequência, pode ocorrer regressão prematura do corpo lúteo e subsequente morte embrionária (McDowell *et al.*, 1988). Além disso, a fixação do conceito em contato direto com o cisto pode impedir o suprimento adequado de nutrientes, gerando uma circulação placentária insuficiente, capaz de levar à uma morte embrionária (Vanderwall e Newcombe, 2007).

Vários estudos têm descrito os efeitos adversos dos cistos na fertilidade (Adams *et al.*, 1987; Chevalier-Clement, 1989), incluindo a redução das taxas de concepção e aumento das perdas gestacionais. Entretanto, quando a idade das éguas foi contabilizada na análise dos dados, não houve evidências do efeito dos cistos endometriais na taxa de perdas embrionárias em éguas (Eilts *et al.*, 1995).

#### 3.4.1.1.2. Deficiência de progesterona

Embora não existam informações sobre as concentrações ideais de progesterona necessárias para o desenvolvimento e manutenção de uma gestação normal,

concentrações inadequadas têm sido associadas à morte embrionária (Douglas *et al.*, 1985; Ginther *et al.*, 1985). Nesse sentido, Douglas *et al.* (1985) propuseram que níveis de progesterona abaixo de 2,5 ng/ml em torno do 12º dia indicam insuficiência lútea e inviabilidade da gestação.

No que se refere aos estrógenos, a concentração plasmática entre o 13º e o 21º dia pós-ovulação é menor em éguas com perdas embrionárias do que em éguas gestantes (Lopes *et al.*, 1993). Isto pode ser um indicativo de viabilidade embrionária, porém são necessários estudos mais detalhados para que isso seja confirmado (Papa *et al.*, 1998).

A reduzida produção de progesterona pelo corpo lúteo é apontada como causa importante de morte embrionária, podendo ser provocada por vários mecanismos, valendo salientar a insuficiência lútea primária; reduzido aporte gonadotrófico ao corpo lúteo; falha no reconhecimento materno da gestação; luteólise pela liberação de prostaglandina F2 $\alpha$  pós-endometrite ou como resultado de endotoxemia; e inibição da função ovariana associada ao estresse (Bergfelt *et al.*, 1992; Ball, 1993).

Apesar de ter sido responsabilizada como causa de perda embrionária, não há evidências de que a insuficiência lútea possa causar morte embrionária durante os primeiros 20 dias da gestação. Neste período pode ocorrer luteólise prematura induzida por endometrite, com liberação de prostaglandina F2 $\alpha$ , o que ocasiona o encurtamento do diestro. Esta é uma das causas mais comuns de perda gestacional antes do 20º dia da gestação (Ball, 1993). Entretanto, menores concentrações séricas de progesterona foram encontradas entre os dias 7 e 11 pós-ovulação, em éguas que apresentaram perda embrionária. No entanto, não se pôde correlacionar o evento à insuficiência lútea primária, uma vez que concentrações menores de progesterona no

dia 7 pós-ovulação podem estar associadas tanto à insuficiência lútea como à luteólise precoce (Ginther *et al.*, 1985).

Entre os 14 e 18 dias de gestação, uma falha no reconhecimento materno da gestação tem sido apontada como uma importante causa de morte embrionária. Assim, uma assincronia “materno-embrionária”, que pode ser causada por um desenvolvimento lento do embrião; secreção prematura de PGF2 $\alpha$  uterina devido à endometrite; bem como alterações na mobilidade embrionária causadas por aderências ou cistos endometriais (Ball, 1993), podem impedir a correta sinalização do conceito, gerando sua morte.

Embora baixas concentrações de progesterona causadas por insuficiência lútea primária tenham sido responsabilizadas como causadoras de perda embrionária em éguas, sua ocorrência não foi claramente demonstrada (Allen, 2001). Entretanto, tem sido observado que algumas éguas gestantes sofrem luteólise nos dias 14 a 16, mesmo na presença de um embrião (Ginther, 1985; Vanderwall *et al.*, 2000). Nestes casos, observa-se edema endometrial principalmente no corpo uterino, presença da vesícula embrionária mais frequentemente no corpo do útero e menos nos cornos, e expressão de sinais de estro pela égua. Mensurações de progesterona abaixo de 1 ng/ml confirmam o quadro. Tal condição tem sido observada, principalmente, em éguas que concebem no período pós parto imediato (Ginther, 1985; Newcombe, 2000; Vanderwall *et al.*, 2000). A suplementação com progesterona exógena pode prevenir a perda embrionária, embora o tratamento deva se estender até que ocorra a formação dos corpos lúteos acessórios e/ou que se inicie a produção de progestágenos, pela unidade fetoplacentária (Vanderwall, 2008).

Apesar de não haver evidências científicas que comprovem a sua eficácia, a administração profilática de progesterona exógena tem sido utilizada na tentativa de

garantir a manutenção da gestação, especialmente, em éguas com histórico de perda embrionária. A utilização do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), administrado nos dias 10 ou 11 da gestação foi associada com a redução da taxa de perda embrionária, antes do 30º dia da gestação, o que pode estar relacionado à um efeito benéfico do aumento das concentrações endógenas de progesterona (Pycock e Newcombe, 1996; Newcombe *et al.*, 2001).

No Brasil, Papa *et al.* (1998) registraram 13,8% de morte embrionária até os 30 dias pós-ovulação em 128 éguas das raças PSI e Quarto de Milha. Ao contrário do observado por Ginther *et al.* (1985), a disfunção lútea primária não pareceu ser a causa de morte embrionária neste estudo, uma vez que as concentrações plasmáticas de progesterona foram similares ( $p > 0,05$ ) entre éguas gestantes e aquelas que apresentaram perda embrionária.

Ao mensurarem as concentrações de progesterona, Darenius *et al.* (1987), não observaram insuficiência lútea primária em nenhuma das 14 éguas que apresentaram morte embrionária ou aborto, como foi demonstrado por Ginther (1985). Somente um animal, que sofreu reabsorção embrionária duas vezes, apresentou padrão diferenciado de progesterona. Entretanto, observou-se que esta égua não desenvolveu uma gestação normal, apresentando intervalos interovulatórios irregulares, com a demonstração de cio e ovulações, mesmo na presença de um concepto.

#### 3.4.1.1.3. Idade materna

As maiores taxas de perda embrionária, variando de 20 a 30% ou mais, têm sido registradas em éguas com idade superior a 18 anos (Woods *et al.*, 1987; Vanderwall *et al.*, 1989; Carnevale e Ginther, 1992;

Hemberg *et al.*, 2004; Carnevale *et al.*, 2005; Allen *et al.*, 2007).

Apesar das perdas fetais aumentarem em éguas velhas ao final da gestação, as perdas precoces são as principais responsáveis pela reduzida fertilidade observada. As taxas de fertilização aproximam-se dos 90% e não sofrem grande interferência da idade, sendo de 91-96% para éguas jovens e de 81-92% para éguas velhas (Ball *et al.*, 1986; Ginther, 1992). Por outro lado, as perdas gestacionais entre 15 e 42 dias foram muito superiores nas éguas de idade avançada quando comparadas com éguas jovens (23% e 5%, respectivamente) (Morris e Allen, 2002; Allen *et al.*, 2007).

Mesmo com alta taxa de fertilização, as taxas de coleta de embriões nos dias 6 e 9 pós-ovulação são significativamente maiores para éguas mais jovens quando comparadas com éguas de idade avançada, o que implica em alta taxa de perda embrionária durante a primeira semana de gestação nestas éguas (Woods *et al.*, 1986; Vogelsang e Vogelsang, 1989). Dessa forma, estimativas do percentual de perdas embrionárias entre a fertilização e o 10º de gestação, estão em torno de 9% para éguas jovens e 60-70% para éguas velhas (Ball *et al.*, 1986, 1989).

Possíveis causas de perdas embrionárias em éguas de idade avançada incluem: anormalidades do ambiente uterino, falhas no transporte dos gametas, envelhecimento do oócito, alterações na tuba uterina e defeitos embrionários. Deformidades do sistema genital, que facilitam o acesso de contaminantes para o interior do útero, também contribuem para menores taxas de concepção (Ginther, 1992).

Clinicamente, anormalidades do endométrio têm sido consideradas um importante fator envolvido na reduzida fertilidade de éguas mais velhas. Um grande número de estudos tem caracterizado alterações degenerativas do endométrio em função do aumento da idade da égua, sendo que o declínio da

fertilidade associado com o avançar da idade tem sido frequentemente atribuído a estas alterações, que incluem endometroses, endometrites bem como alterações vasculares (Ball, 2000). Éguas com idade superior a 15 anos apresentaram maior incidência de alterações uterinas inflamatórias e degenerativas, associadas a uma menor contratilidade uterina em relação às éguas jovens (Carnevale *et al.*, 1993b). Segundo Carnevale e Ginther (1992), a contratilidade uterina insuficiente poderia resultar em redução da mobilidade do embrião, um contato insuficiente do mesmo com o endométrio, e consequentemente luteólise e perda embrionária.

As angiopatias em éguas reprodutoras estão relacionadas com o número de partos e com o avançar da idade (LeBlanc, 2003). Portanto, éguas mais velhas e com elevado número de partos apresentam aumento de alterações inflamatórias degenerativas no sistema vascular uterino, com angioesclerose ou ainda a esclerose da prenhez, caracterizada pelo aumento da ruptura da membrana elástica interna, atrofia medial e da íntima, elastose adventicial e calcificação medial da parede dos vasos (LeBlanc *et al.*, 1998). Além disso, Henry (1981) demonstrou alta frequência de aderências infundibulares e infundibulites em éguas mais velhas. Desta forma, percebe-se que o sistema reprodutivo das éguas se torna, com o avançar da idade, cada vez mais inóspito para receber e manter o desenvolvimento de um embrião.

Assim, Morris e Allen (2002) detectaram menores taxas de perda gestacional em éguas com idades entre 3 e 8 anos, sendo que a taxa quase duplicou em éguas apresentando de 9 a 13 anos de idade. Segundo os autores, isso é resultante do início das alterações degenerativas endometriais inerentes à idade, reduzindo sua capacidade nutritiva para o conceito em desenvolvimento (Bracher *et al.*, 1996).

A coleta de embriões na tuba uterina no quarto dia após a fertilização em éguas jovens e mais velhas, com posterior transferência dos mesmos para o útero de éguas jovens, foi avaliada. Observou-se, neste experimento, que as taxas de sobrevivência embrionária, dos embriões oriundos dos animais mais novos, foram significativamente superiores em relação ao que observou-se naqueles oriundos de éguas mais velhas (84% e 25%, respectivamente). Assim, segundo os autores, os efeitos deletérios da idade da égua sobre a fertilidade devem ser atribuídos, principalmente, a defeitos intrínsecos ao oócito e ao embrião resultante (Ball *et al.*, 1989).

Ao investigarem a qualidade do oócito de éguas mais velhas, Carnevale e Ginther (1995) realizaram aspirações foliculares e transferência de oócitos para comparar a sua viabilidade e a de embriões de éguas com idades entre 6 a 10 anos, e entre 20 e 26 anos. Os oócitos aspirados foram transferidos para a tuba uterina de receptoras jovens, de forma a se evitar o contato dos mesmos com o ambiente tubárico potencialmente deletério das éguas mais velhas. No 12º dia após a fertilização, detectou-se taxa de concepção de 92% para os oócitos coletados de éguas jovens, e 31% para os oriundos de éguas mais velhas, novamente demonstrando-se a influência da idade sobre a qualidade do gameta feminino.

Carnevale *et al.* (1999) utilizando microscopia eletrônica comparou oócitos de éguas jovens e éguas velhas. Observaram que a maioria dos oócitos oriundos dos animais mais velhos apresentava grande quantidade de vesículas intracelulares. Além disso, perceberam que os oócitos dessas fêmeas possuíam anomalias morfológicas não visualizadas nos oócitos das éguas jovens, como grandes vesículas no ooplasma ou associadas ao núcleo, regiões do ooplasma desprovidas de organelas e presença de microvilosidades no ooplasma. Com relação à quantificação de organelas

celulares não se observou diferenças significativas. A partir desse estudo percebeu-se que os oócitos oriundos de éguas mais velhas apresentam mudanças degenerativas que variam entre oócitos individuais; no entanto, não se sabe ao certo quais dessas anomalias são responsáveis pela redução da fertilidade nesses animais.

Rambags *et al.* (2006) após maturação *in vitro* de oócitos, observaram que o número de mitocôndrias foi significativamente menor em oócitos de éguas com idade superior a 12 anos quando comparados aos de éguas jovens, com menos de 11 anos de idade. Além disso, a realização de microscopia eletrônica revelou que as mitocôndrias presentes nos oócitos das éguas mais velhas, apresentavam-se com aspecto inchado e com criptas danificadas.

Especula-se que em éguas com idade avançada, espécies de oxigênio reativas (ROS), geradas durante a fosforilação oxidativa constitutiva, tem mais tempo de infligir danos cumulativos sobre as membranas mitocondriais dos oócitos. No entanto, essas lesões só se tornam aparentes quando aumenta-se a demanda de energia pelo oócito, por exemplo, durante a maturação *in vitro*. Assim, a redução do número de mitocôndrias e a qualidade de oócitos maturados de éguas velhas podem ter efeitos sobre a competência do desenvolvimento (Rambags *et al.*, 2006). Em mulheres, o baixo número de cópias de DNA mitocondrial do oócito tem sido associado com reduzida fertilidade, enquanto em camundongos, grandes danos às mitocôndrias do oócito restringem a habilidade do mesmo de sofrer a quebra da vesícula germinal, a formação do fuso meiótico, a segregação dos cromossomos, a extrusão do corpo polar e a formação do blastocisto (Rambags *et al.*, 2006).

Carnevale e Ginther (1995) propuseram que em éguas de idade avançada, a ovulação atrasada e o envelhecimento do oócito combinam-se aditivamente, resultando na

produção de oócitos pouco viáveis. Nestes animais, a senescência reprodutiva é caracterizada pelo alongamento da fase folicular, ovulações irregulares e eventualmente inatividade ovulatória.

Mais recentemente, Rabelo (2009) trabalhando com receptoras da raça Mangalarga Marchador, encontrou taxas de perda embrionária de 8,06%, 6,58% e 13,21% para fêmeas de até 5 anos, entre 5 a 10 anos, e de 11 a 16 anos, respectivamente, não encontrando influência ( $p > 0,05$ ) das diferentes faixas etárias estudadas. No entanto, em termos de valor absoluto, as fêmeas com idade acima de 11 anos apresentaram taxas de fertilidade menores quando comparadas às fêmeas de idades inferiores.

Mitchell e Allen (1975) estudaram o desempenho reprodutivo de 137 potras jovens, entre 12 e 14 meses de idade, expostas ao garanhão pela primeira vez, por quatro estações de monta consecutivas. A taxa de concepção foi de 69,34%, sendo que 46,32% abortaram de forma espontânea entre os dias 30 e 160 da gestação. Exames adicionais não indicaram agentes infecciosos como causadores das perdas, enquanto as concentrações de gonadotrofina coriônica (eCG) apresentaram-se similares entre as fêmeas que perderam as gestações e as demais. Exames adicionais não demonstraram ser a causa dos abortos infecciosos. Concluiu-se que a alta incidência de perdas gestacionais foi ocasionada, principalmente, pela imaturidade do sistema genital das fêmeas púberes, demonstrando-se que éguas muito jovens também apresentam características que favorecem a ocorrência de morte embrionária e a perda fetal.

O mesmo foi observado por Lucas *et al.* (1991) trabalhando com éguas selvagens. Os autores observaram alta taxa de perda gestacional entre potras de um e dois anos de idade (70% e 46,3%, respectivamente), contra 16,7% e 5,6% para as de 3 e 4 anos,

respectivamente. Da mesma forma, a alta taxa de perda foi atribuída à imaturidade reprodutiva das fêmeas.

Ao avaliarem a eficiência reprodutiva de potras da raça Mangalarga, que iniciaram sua atividade reprodutiva aos 34 meses de idade, Oliveira *et al.* (1986) observaram alta taxa de perda embrionária (50%), especulando que coberturas antes dos 36 meses de idade, de potras com maturidade reprodutiva eventualmente incompleta, podem contribuir para o aumento da incidência de perdas gestacionais.

#### 3.4.1.1.4. Categoria reprodutiva da égua

Segundo Kenney (1978), nenhuma categoria de égua (lactante, potra ou solteira) tem sido identificada como especialmente susceptível à perda embrionária. No entanto, éguas lactantes têm incidência relativamente maior de morte embrionária quando cobertas no “cio do potro”, o que não se verifica quando as cobrições são realizadas nos cios subsequentes (Merkt, 1966; McKinnon *et al.*, 1988; El-Wishy *et al.*, 1990; Morris e Allen, 2002).

No entanto, os estudos são conflitantes no que diz respeito à fertilidade no primeiro estro pós parto, ou “cio do potro”, que começa 5 a 12 dias após a sua ocorrência (Ginther, 1992). Assim Woods *et al.* (1987), Duarte *et al.* (2002) e Blanchard *et al.* (2004) não encontraram diferenças nas perdas embrionárias entre éguas cobertas no “cio do potro” ou no cio subsequente. No entanto, outros estudos evidenciaram maiores taxas de perda em éguas cobertas no “cio do potro” (Merkt, 1966; Bell e Briston, 1987; Morris e Allen, 2002; Allen *et al.*, 2007), sendo responsabilizadas as anormalidades do ambiente uterino, a involução retardada do útero e as endometrites persistentes como os fatores que mais contribuem para essas perdas (Ball, 1993; Grunert *et al.*, 2005).

Ao comparar a incidência de reabsorção embrionária entre éguas inseminadas no “cio do potro” e as inseminadas no cio subsequente, induzido com PGF2 $\alpha$ , Vianna (2000) observaram diferenças significativas favorecendo o segundo grupo de éguas.

Blanchard *et al.* (2004) em um estudo retrospectivo envolvendo os anos de 1999 a 2003 no Texas, observaram que a taxa de concepção, ao primeiro ciclo, o total de ciclos por prenhez, e a taxa de perdas gestacionais não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre éguas cobertas no primeiro cio pós-parto (72%, 1,22 e 11,6% respectivamente) e aquelas cobertas nos cios subsequentes (76%, 1,22 e 9%, respectivamente). Já as perdas embrionárias foram superiores em éguas cobertas no “cio do potro”, quando as mesmas foram tratadas para acúmulo de fluido intra-uterino.

Morris e Allen (2002) observaram que éguas solteiras apresentaram menor taxa de perda embrionária entre os dias 15 e 35 da gestação quando comparadas com éguas no “cio do potro”, embora as taxas de perda fetal, a partir dos 35 dias pós-ovulação tenham sido similares entre os grupos.

Rabelo (2009) não encontrou diferenças significativas com relação às perdas embrionárias entre éguas inseminadas no “cio do potro” ou no cio subsequente, com valores de 8,97% e 10,26%, respectivamente.

Alguns autores descreveram maior fertilidade para a categoria de potras (Oliveira *et al.*, 1988; Silva, 1988; Naden *et al.*, 1990; Ferreira, 1993; Morris e Allen, 2002). Entretanto, é preciso ressaltar que taxas de perdas gestacionais superiores foram relatadas em fêmeas muito jovens (Mitchell e Allen, 1975; Lucas *et al.*, 1991).

Wilsher e Allen (2002) observaram uma área microcotiledonária total significativamente menor nas primíparas que nas éguas múltiparas. Tal observação pode explicar o menor peso dos potros nascidos de

primíparas, em relação aos de fêmeas múltiparas, influenciado por fatores relacionados à maturação uterina. Dessa maneira, trabalhos demonstram haver necessidade de um período pós-puberdade para o completo desenvolvimento reprodutivo, pois se observa, na espécie equina, aumento considerável do tamanho da genitália no decorrer da puberdade (Andrade, 1986).

Demandas energéticas para a lactação e/ou alterações hormonais associadas com a lactação podem afetar a incidência de perdas gestacionais (Vanderwall e Newcombe, 2007). Van Niekerk e van Niekerk (1998) observaram concentrações de progesterona inferiores em éguas lactantes em relação às não lactantes. Ao avaliarem éguas da raça Mangalarga, Oliveira *et al.* (1986) relataram incidência de perda gestacional precoce de 6,4% em éguas não lactantes e de 7,9% nas lactantes, não havendo diferença estatística entre as duas categorias.

Já Merkt (1986) avaliando éguas Puro Sangue Inglês durante 10 anos consecutivos, observou 8,4% de morte embrionária durante os primeiros 60 dias de gestação, em 11098 éguas. Observou ainda, uma maior taxa de perda nas éguas lactantes quando comparadas às éguas solteiras.

Hemberg *et al.* (2004) não observaram diferenças entre as categorias reprodutivas, quanto à taxa de concepção ao primeiro e segundo ciclos, taxa de concepção total e taxa de potros nascidos. A taxa de perdas gestacionais foi numericamente maior para éguas solteiras (15,3%) e éguas que reabsorveram o embrião ou abortaram na estação de monta anterior (20,4%), em relação às observadas em potras (7,8%) e éguas com “potro ao pé” (12,2%). Segundo os autores, estas perdas podem estar relacionadas, supostamente, à idade das éguas, uma vez que uma maior proporção de éguas com problemas reprodutivos encontravam-se na categoria de éguas mais velhas.

Chevalier e Palmer (1982) trabalhando com ultrassonografia, estudaram a morte embrionária a partir do 14º dia da ovulação, num total de 7438 exames realizados em 4688 éguas de diferentes raças e condições reprodutivas. A taxa de morte embrionária foi de 5,3%, sendo acima dos 43 dias de 9%, não havendo um período crítico de ocorrência das perdas, mesmo em função da condição reprodutiva. Éguas cobertas no “cio do potro” apresentaram 11,9% de perdas (n=193); éguas lactantes 13,3% (n=448), sendo o valor de 11,5% observado para éguas solteiras (n=446). Os autores concluíram que a categoria reprodutiva da égua, no momento da cobertura, não interferiu na taxa de morte embrionária.

Em estudo recente, Rabelo (2009) avaliou as taxas de perdas gestacionais concernentes à condição reprodutiva das fêmeas, sendo de 5,77%, 9,82% e 9,61% para as fêmeas nulíparas, pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes, respectivamente. Esses resultados não evidenciaram diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre as categorias reprodutivas. Observações similares foram relatadas por Woods *et al.* (1987) em éguas de diferentes raças, por Chevalier-Clément (1989) em fêmeas PSI, por Souza *et al.* (2001) e por Duarte *et al.* (2002), em éguas quarto de milha.

#### 3.4.1.1.5. Momento da inseminação em relação à ovulação

Inseminações em éguas realizadas após a ovulação têm sido associadas a um aumento da incidência de perda embrionária. Neste sentido, Woods *et al.* (1990) observaram uma taxa de perda embrionária, entre os dias 15 e 40 de gestação, de 34% em éguas inseminadas com sêmen a fresco, dentro do período de 24 horas pós-ovulação. O grupo de éguas inseminadas pré-ovulação apresentou taxa de perda gestacional inferior, de 14%. Resultado similar foi



observado por Koskinen *et al.* (1990) citado por Vanderwall e Newcombe (2007), que observaram uma ocorrência de 35,8% de perdas embrionárias entre os dias 16 e 25 de gestação em éguas inseminadas pós-ovulação, não havendo nenhuma perda nas éguas inseminadas no período pré-ovulatório. Os autores concluíram que o oócito permaneceu viável por 18 horas após a ovulação, porém a alta incidência de morte embrionária sugere que a viabilidade do embrião poderia estar diminuída.

Explicações para a maior incidência de perda embrionária encontrada em éguas inseminadas após a ovulação requerem estudos mais refinados. É possível que a qualidade do oócito seja alterada de forma a não prejudicar a fertilização, mas sim a viabilidade embrionária.

Desta forma, Hunter (1990) propõe que 12 horas após a ovulação inicia-se um intenso processo de mudanças que resultam na degeneração do gameta feminino. O envelhecimento dessa estrutura caracteriza-se pela perda da estabilidade das organelas citoplasmáticas e nucleares, resultando em dois tipos de alterações: 1- perda dos cromossomos da placa metafisária pela desorganização dos microtúbulos. Assim, o oócito continua sua divisão meiótica, mas mesmo que venha a ser fecundado, pode formar um zigoto com alterações cromossômicas, ocorrendo geralmente a morte embrionária. 2- Falha na liberação do conteúdo dos grânulos corticais no espaço perivitelínico, responsável pelo bloqueio da poliespermia. Neste caso, o oócito fica sujeito à múltiplas fertilizações, perdendo sua capacidade de formar um embrião normal. Isso foi evidenciado em estudo realizado por Katila *et al.* (1988), quando obteve-se, para o intervalo de 24 a 30 horas após a ovulação, taxa de concepção de 0%, resultado semelhante ao apresentado por Kahmi e Varadin (1964), utilizando cobrições dois dias após a ovulação.

Outra possibilidade seria que o atraso na fertilização, advindo da inseminação pós-ovulação causaria um atraso no desenvolvimento embrionário de forma a comprometer a sua habilidade em bloquear a luteólise (Huhtinen *et al.*, 1996). Esta última suposição é fortalecida pelos achados de Woods *et al.* (1990), que observaram embriões menores em éguas inseminadas pós-ovulação. Apesar de morfológicamente normais, estas pequenas vesículas, provavelmente, possuem menor mobilidade e propiciam menor bloqueio ao mecanismo luteolítico uterino. Koskinen *et al.* (1990) observaram que 4 de 5 mortes embrionárias ocorreram em éguas inseminadas pós-ovulação, no período entre os dias 16 e 21, que corresponde ao momento em que ocorreria um decréscimo na concentração de progesterona caso o embrião não sinalizasse sua presença adequadamente.

Por outro lado, Barbacini (1999b) não observou diferenças na taxa de perda embrionária entre éguas inseminadas 6 horas pós-ovulação e àquelas inseminadas pré-ovulação com sêmen congelado. Pode ser que os efeitos adversos da inseminação pós-ovulação não se manifestem a não ser que esta ocorra após 6 horas da ovulação.

Silva (1995) obteve taxas de perda fetal de 9,09% e 8,33%, quando da avaliação de coberturas no período de seis e doze horas pós-ovulação, respectivamente, não tendo sido observadas diferenças entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Para o autor, este resultado está mais ligado a fatores relacionados ao ambiente uterino do que à qualidade do embrião.

Pickett *et al.* (1987) e Woods *et al.* (1990) postularam que inseminações realizadas no período pós-ovulação são viáveis dentro de 12 horas da liberação do oócito, quando os resultados foram similares aos de inseminações realizadas pré-ovulação. No entanto, Katila *et al.* (1988), obtiveram fecundação dentro de até 18 a 24 horas após a ovulação, embora os resultados fossem

superiores no período de 12 a 18 horas após a sua ocorrência.

Em estudo recente, Ferraz e Vicente (2006) avaliaram a influência do momento de cobertura, em relação à ovulação, na fertilidade e na ocorrência de morte embrionária em 405 éguas da raça Puro Sangue Inglês. Para isso, formaram-se cinco grupos, sendo, o grupo I, constituído por éguas cobertas em um período de 48 e 36 horas antes da ovulação; o grupo II, por éguas cobertas 36 a 24 horas antes da ovulação; o grupo III, por éguas cobertas 24 a 12 horas antes da ovulação; o grupo IV, por éguas cobertas até 12 horas antes da ovulação; e o grupo V, por éguas cobertas até 12 horas após a ovulação. Encontrou-se taxas de morte embrionária, para os cinco grupos estudados de 17,4%, 14,1%, 10,3%, 7,6% e 10,0%, respectivamente. Apesar de a taxa de perda embrionária não ter diferido ( $p>0,06$ ) entre os intervalos considerados, houve tendência numérica de maiores perdas para os grupos de fêmeas cobertas no período mais distante da ovulação (48 e 24 horas pré-ovulação).

Souza (2007) estudando a taxa de concepção de 50 éguas inseminadas nos períodos de 12 ou 24 horas pós-ovulação com dois ganhões, obteve taxas de perda gestacional para o ganhão 1 de 11,10% e 7,69%, e para o ganhão 2 de 14,29% e 33,33%, respectivamente, para os dois intervalos considerados. Todas as perdas ocorreram no período entre o 30º e o 40º dia de gestação, e não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) entre os grupos com relação à taxa de perda.

#### 3.4.1.2. Fatores extrínsecos à morte embrionária

##### 3.4.1.2.1. Estresse, nutrição e condições climáticas

Perdas gestacionais associadas à condições estressantes são atribuídas à elevação sérica

de cortisol e concomitante redução das concentrações plasmáticas de progesterona (Bem-Nathan, 1977; Sulong, 1985). O transporte, confinamento, temperaturas ambientais extremas, desmama e dor intensa têm sido associados à perda embrionária (Bem Nathan, 1977; van Niekerk e Morgenthal, 1982).

Os efeitos adversos do estresse sobre a concentração plasmática de progesterona parecem ser mediados pelo aumento dos corticosteroides, já que a administração de 150 mg de prednisolona à duas éguas gestantes resultou em um decréscimo transitório nas concentrações do hormônio, variando de 30 a 50% (van Niekerk e Morgenthal, 1982). Decréscimo nas concentrações plasmáticas e teciduais de ácido ascórbico foram associadas ao estresse prolongado (Bem Nathan, 1977) e ao aborto ou reabsorção embrionária (Rives e Devine, 1975).

Bristol (1987) estudou a ocorrência de abortos entre os 3 e 6 meses de gestação, por três estações reprodutivas, encontrando taxas de 17,8% em 1983, 4,3% em 1984 e 3% em 1985. A maior incidência de abortos foi relacionada ao estresse associado à mudança repentina da dieta e do ambiente, devido ao estabulamento das éguas gestantes. Nas primeiras 10 semanas de confinamento ocorreram 74,1% dos abortos.

Há que se ressaltar os efeitos sistêmicos provocados por endotoxinas bacterianas produzidas quando de certas doenças metabólicas e/ou sistêmicas. Os efeitos adversos da endotoxemia sobre a função lútea ocorrem devido à liberação endógena de  $\text{PGF}2\alpha$ . Alguns estudos demonstraram que éguas cobertas por jumentos possuem maior sensibilidade à administração exógena de  $\text{PGF}2\alpha$ , quando comparadas com fêmeas cobertas por cavalos (Acosta, 2008; Cantón, 2008; Flores, 2009). Possivelmente, o estresse associado à liberação de  $\text{PGF}2\alpha$  possa resultar em regressão lútea em éguas que não estão protegidas por altas

concentrações de eCG, como ocorre em éguas gestando embriões muares, resultando portanto na perda do concepto (Boeta e Zarco, 2010).

Belonje e van Niekerk (1975) demonstraram que éguas gestantes mantidas sob baixos níveis nutricionais apresentaram o desenvolvimento da vesícula embrionária normal até aproximadamente o 25º dia de gestação. A partir deste período o crescimento da vesícula cessava e ocorria a morte embrionária, demonstrando-se o efeito das condições nutricionais sobre a sobrevivência do embrião.

Entretanto, neste mesmo estudo, éguas cobertas e mantidas sob baixos níveis nutricionais até o 18º dia pós-ovulação, não apresentaram morte embrionária quando a partir deste dia foram atendidas as exigências nutricionais. Quando as éguas foram mantidas em um plano nutricional adequado até o 35º dia pós-ovulação, a incidência de morte embrionária foi baixa, mesmo quando a partir desta data a alimentação foi reduzida.

Van Niekerk e Van Niekerk (1998) verificaram a influência da nutrição sobre a ocorrência de MEP. Observaram uma taxa de 35,7% em éguas alimentadas com dieta pobre em proteína e 7,3% em animais que receberam níveis adequados de proteína. Belonje e Van Niekerk (1975), em éguas com má condição nutricional, observaram alta taxa de MEP entre os dias 25 e 31 de gestação.

A restrição da ingestão de energia durante a gestação, bem como a manutenção de éguas em baixo escore de condição corporal durante a lactação, podem resultar em menores taxas de concepção e também aumentar a incidência de perdas gestacionais entre 60 e 90 dias de gestação (Henneke *et al.*, 1984). Neste mesmo estudo, percebeu-se que éguas que ingeriram excesso de energia durante a lactação ou aquelas que sofreram restrição alimentar nos últimos 90 dias pré-parto, mas foram suplementadas durante a

lactação, não apresentaram alta taxa de perda embrionária.

Em bovinos têm sido demonstrado que condições climáticas ou sazonais como altas temperaturas podem afetar o desenvolvimento embrionário causando aumento das taxas de perda gestacional (Rensis e Scaramuzzi, 2003). Em equinos, não há evidências claras de um efeito ambiental sobre a taxa de perda embrionária (Woods *et al.*, 1985). No hemisfério norte, Hearn *et al.* (1993) descreveram maior incidência de perdas embrionárias em éguas cobertas/inseminadas nos meses de fevereiro e março em comparação às cobertas/inseminadas mais tarde na estação de monta. Entretanto, mais do que um efeito sazonal verdadeiro, este achado pode refletir o fato de que grande proporção das éguas cobertas precocemente na estação de monta são éguas que ficaram vazias na estação anterior, incluindo éguas mais velhas, resultando em maiores perdas (Vanderwall e Newcombe, 2007).

#### 3.4.1.2.2. Efeito do reprodutor e manipulação/processamento do sêmen

Com relação à influência do reprodutor sobre a incidência de perdas gestacionais existe controvérsia na literatura. Platt (1973) demonstrou essa correlação após os 42 dias de gestação. Após o advento do ultrassom, Chevalier-Clement (1989) avaliando mais de 3700 éguas gestantes não observaram efeito dos 261 garanhões utilizados sobre a taxa de perda gestacional entre os dias 22 e 44 da gestação.

Hemberg *et al.* (2004) trabalhando com dois garanhões e 430 éguas Puro-Sangue, no período de 1997 a 2001 na Suécia, obtiveram taxa de concepção e de potros nascidos vivos de 90,9% e 79,8%, respectivamente, não havendo diferenças ( $p>0,05$ ) entre os garanhões no que diz respeito a estes parâmetros. As perdas

gestacionais entre o primeiro diagnóstico de gestação e o parto foram de 12,5%.

Mais recentemente, Allen *et al.* (2007) observaram através da avaliação da eficiência reprodutiva de 36 garanhões, que as taxas de perda embrionária, entre os dias 15 e 42, para 26 dos garanhões variaram de 0 a 12%, sendo que 10 garanhões demonstraram taxas de perdas embrionárias acima do normal, com valores entre 13 e 26%.

Em um estudo conduzido por Morris e Allen (2002), quando avaliou-se a eficiência reprodutiva de 1393 éguas Puro Sangue na região de Newmarket na Inglaterra, demonstrou-se que, dentre 41 garanhões estudados, éguas cobertas com oito desses garanhões apresentaram uma perda gestacional superior, de  $26 \pm 5,1\%$  ( $p < 0,05$ ), enquanto para os demais garanhões esse valor fosse de  $6,8 \pm 5,8\%$ .

Atualmente, com a difusão do uso do sêmen resfriado e congelado, estudos vêm sendo conduzidos no sentido de avaliar o efeito do processamento sobre a qualidade do sêmen e consequentemente do embrião resultante. Moberg (1975) observou maior taxa de perda embrionária em éguas inseminadas com sêmen fresco ou congelado quando comparadas às éguas servidas por monta natural. Entretanto, o estudo deste autor resultou da avaliação de dados retrospectivos de um pequeno número de animais. Também Squires *et al.* (1984) e Villahoz (1985) relataram maior taxa de morte embrionária nas éguas inseminadas com sêmen congelado, em comparação às inseminadas com sêmen a fresco.

Já Klug *et al.* (1975) inseminando 116 éguas com sêmen congelado verificaram uma taxa de parto de 44%, sendo a taxa de perda embrionária de 14,5%. Estes autores não observaram qualquer evidência de que o sêmen congelado aumente as taxas de perda embrionária.

O efeito da individualidade do reprodutor sobre a taxa de perda gestacional em éguas merece um maior aprofundamento científico, podendo revelar incompatibilidades cromossômicas entre os genótipos materno e paterno, como resultado de fatores como genes homozigotos letais e coeficientes elevados de endogamia (Morris e Allen, 2002).

#### 3.4.1.2.3. Fatores embrionários

As aberrações cromossômicas constituem a maior causa de falha gestacional precoce nos animais domésticos, representando 20% das perdas embrionárias e fetais (King, 1990). Durante o pareamento dos cromossomos haploides maternos e paternos podem ocorrer erros letais ao embrião. A poliespermia, penetração de mais de um espermatozoide no oócito, também está associada a alterações cromossômicas. Mixoploidia, poliploidia e haploidia são alterações encontradas frequentemente na produção *in vitro* de embriões (Kawarsky *et al.*, 1996; Viuff *et al.*, 1999), embora ainda não tenha sido investigado se essas seriam causas de perda embrionária na espécie equina (Vanroose *et al.*, 2000). Existe pouca informação na literatura envolvendo alterações cromossômicas no embrião equino e resultante morte embrionária. Muitas conclusões são advindas de estudos realizados em outras espécies.

O aumento da idade materna está associado à redução da qualidade do oócito, refletindo alterações cromossômicas e outras alterações intrínsecas ao mesmo, que aparentemente não afetam a capacidade de fertilização, mas comprometem o desenvolvimento normal do embrião formado, aumentando dramaticamente as perdas embrionárias em éguas de idade avançada.

Diante disso, Brinsko *et al.* (1994) avaliaram o desenvolvimento de embriões após dois

dias da fertilização, obtidos de éguas jovens (2 a 7 anos de idade) e de éguas de idade avançada (17 a 24 anos de idade), cultivados em células de epitélio da tuba uterina de ambos os grupos experimentais. A proporção de embriões que se desenvolveram até o estágio de blastocisto foi similar para embriões obtidos dos dois grupos após cultivo em células tubáricas de éguas jovens ou mais velhas. No entanto, os blastocistos obtidos das fêmeas de idade avançada apresentaram-se inferiores quanto ao número de núcleos celulares, qualidade do embrião e diâmetro apresentado no sétimo dia de desenvolvimento. Esse estudo demonstrou que as altas taxas de morte embrionária em éguas mais velhas não estão relacionadas à habilidade de desenvolvimento do embrião até o estágio de blastocisto, mas sim a defeitos inerentes aos embriões dessas fêmeas.

Woods *et al.* (1986) avaliaram 28 embriões coletados de lavados uterinos de éguas doadoras férteis ou subférteis. Observaram, neste experimento, um número menor de lavados positivos no grupo de éguas subférteis. Além disso, dentre os embriões coletados, detectaram alta taxa de embriões apresentando anormalidades e com um menor diâmetro embrionário, quando comparados aos embriões obtidos do grupo de doadoras férteis.

A transferência de embriões normais no 7º ou 8º dia de desenvolvimento para o útero de receptoras férteis ou subférteis, resultou em taxas de sobrevivência embrionária similares aos 28 dias para os dois grupos de receptoras (Ball *et al.*, 1987). Já a transferência de embriões no 4º dia de desenvolvimento, oriundos de éguas jovens ou de idade avançada para o útero de receptoras férteis, resultou em uma taxa de sobrevivência embrionária superior aos 14 dias para os embriões oriundos do grupo de doadoras jovens (Ball *et al.*, 1989). A partir destes estudos demonstrou-se que os defeitos inerentes aos embriões, obtidos de éguas de idade avançada, podem ser

responsáveis pelas altas taxas de perda embrionária verificadas nesse grupo de fêmeas.

De maneira similar, a manipulação dos oócitos envolvendo técnicas de reprodução assistida parece afetar a qualidade dos mesmos, e assim, afetar de maneira adversa, o desenvolvimento embrionário inicial (Vanderwall e Newcombe, 2007).

#### 3.4.2. Morte fetal

As taxas de aborto em éguas variam de 7 a 12% (Platt, 1973; Irwin, 1975; Sullivan *et al.*, 1975; Chevalier e Palmer, 1982). Os principais fatores envolvidos são similares aos responsáveis pela morte embrionária: idade da égua (Bain, 1969; Platt, 1973); concepções durante a lactação ou no “cio do potro” (Platt, 1973); efeito do reprodutor (Platt, 1973; Jordão *et al.*, 1954); gestações gemelares (Ginther, 1984); e doenças uterinas como a fibrose periglandular (Kenney, 1978).

Na Austrália, Bain (1969) observou que de 2562 gestações equinas, 19% não resultaram no nascimento de um potro vivo. Das perdas ocorridas, 13,64% se deram entre os 20 e 40 dias da gestação, e 12,4% após esse período. Nenhum estágio gestacional pôde ser relacionado com uma maior ocorrência de abortos. Garg e Manchanda (1986) demonstraram 8,7% de abortos em um total de 2000 gestações estudadas, sendo que a prevalência das perdas, em relação ao período gestacional, foi observada em dois picos, um na metade da gestação, entre as semanas 20 e 32, e outro ao final da gestação, entre as semanas 37 e 44.

De uma maneira geral, as causas de morte fetal podem ser divididas em causas de origem infecciosa ou não infecciosa. Alguns agentes infecciosos podem causar morte fetal em diversas espécies, enquanto outros são específicos de certos hospedeiros, como

a *Brucella* na espécie bovina e o *Herpes Vírus Equino-1* em equinos. Há que se ressaltar que muitos agentes responsáveis pela morte fetal em fêmeas gestantes são contaminantes ambientais, como a *Escherichia coli* e o *Streptococcus zooepidemicus*, que, por meio de placentite bacteriana ascendente são os principais agentes causadores de morte fetal e natimortalidade na égua (Giles *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 2003), respondendo por cerca de 10-20% das perdas fetais nesta espécie (Giles *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 2003).

Como causas não infecciosas de morte fetal ou que comprometem a saúde fetal, citam-se a desnutrição, o estresse e o desequilíbrio endócrino materno (Jonker, 2004).

Assim, Fontaine *et al.* (1993) necropsiaram 309 fetos e potros equinos abortados no período de 1986 a 1990. Atribuiu-se origem infecciosa a 34,6% dos casos, dos quais 79% eram de origem bacteriana e 21% de origem viral. *Streptococcus* foram isolados em 26,1% dos casos, e a *Escherichia coli* em 19,3%. O único vírus envolvido foi o da rinopneumonite equina.

De 175 abortamentos avaliados, Garg e Manchanda (1986) observaram que 58,3% eram oriundos de causas infecciosas, envolvendo agentes bacterianos, virais e fúngicos isolados em 35,4%, 19,4% e 3,4% dos casos, respectivamente. *Salmonella abortus equi*, *Corynebacterium equi*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* foram os agentes bacterianos isolados em maior frequência. O período médio em que foram identificados agentes bacterianos como causa dos abortamentos foi às 29 semanas de gestação. Das causas não infecciosas identificadas, observou-se serem as mais frequentes a placentite, gestações gemelares, anormalidades fetais, toxemia e traumas.

Giles *et al.* (1993) analisaram 3514 casos de fetos abortados, natimortos, potros que morreram em menos de 24 horas após o nascimento, e 13 placentas de éguas que

conceberam potros fracos. As principais causas identificadas foram: infecção fetoplacentária (17,87%), herpesvírus equino (4,06%), fungos (1,73%) e placentite (10%). Em 19% dos casos, o abortamento ocorreu em função de complicações ao nascimento, como asfixia, distocia ou trauma. Também foram identificados edema placentário e separação prematura da placenta (7%); gestação gemelar (6,28%); síndrome do potro contraído (5,35%); outras anomalias congênitas (4,55%) e anormalidades do cordão umbilical (3,44%). Neste estudo, percebeu-se que a leptospirose foi uma importante causa de aborto, envolvendo 2,21% dos casos.

O estresse severo, como no caso de cólicas, também está associado à perda fetal. Assim, Santschi *et al.* (1984-1988) avaliaram 105 éguas gestantes com cólica severa, sendo que 33 fêmeas morreram e das restantes, 18% sofreram aborto após a cólica.

A disfunção placentária, excluindo-se a placentite, também é uma importante causa de morte fetal, embora seja subestimada na literatura. Um dos principais exemplos de insuficiência placentária é observado em éguas apresentando gestação gemelar, quando a área da superfície total da placenta é geralmente muito pequena para um ou ambos os gêmeos sobreviverem a termo (Acland, 1993). Nesses casos, um dos fetos morre durante a gestação, enquanto o sobrevivente, geralmente, nasce menor que o normal. Allen *et al.* (2002) demonstraram a influência crítica da área total da placenta no desenvolvimento neonatal equino, mostrando que o peso ao nascimento é determinado pela área de superfície microscópica total das microvilosidades do alantocórion.

Quanto à idade da égua, tem sido observada uma menor incidência de abortos na categoria de éguas entre três e seis anos de idade (Bain, 1969). Já a ocorrência de infertilidade, subsequente à ocorrência de abortamentos, foi maior nas categorias com

idade superior a 10 anos em comparação às categorias mais jovens. O pior desempenho reprodutivo observado nas éguas que abortaram, foi atribuído pelo autor à falha das éguas em conceber. Já Garg e Manchanda (1986) observaram alta taxa de abortos (34,8%) nas éguas jovens com idades entre 4 e 6 anos, sendo que na média da população estudada a taxa de abortos tenha sido de 8,7%. Neste estudo, a categoria de éguas com idade superior a 19 anos apresentou a maior prevalência de abortos.

Bain (1969) não observou diferenças nas taxas de perdas gestacionais, precoces ou tardias, entre éguas lactantes e solteiras. Ao contrário do observado por Ginther (1985), no que se refere às perdas embrionárias, apenas 12,5% das éguas que abortaram em uma estação reprodutiva tiveram o mesmo comportamento na estação seguinte, indicando baixa repetibilidade. Porém, mesmo considerada baixa, esta taxa de repetição representa um prejuízo econômico para o criador.

### 3.4.3. Aspectos relativos às gestações intra e interespécies de equídeos

A partir de uma série de cruzamentos intra e interespécies entre equídeos, bem como através de uma série de experimentos envolvendo a transferência de embriões nos últimos anos, foi possível demonstrar-se que o genótipo fetal e o ambiente uterino exercem forte influência no que se refere ao desenvolvimento dos cálices endometriais e secreção da eCG. Nestes experimentos, avaliou-se o tamanho dos cálices, o seu desenvolvimento, além da capacidade invasora das células que o constituem no endométrio materno (Allen, 1969, 1975, 1982a; Allen *et al.*, 1987, 1993).

Observou-se, ainda, nestes experimentos, que as éguas e jumentas são capazes de levar a termo uma gestação interespécie de

embriões muares (égua x jumento) ou bardotos (jumenta x cavalo), sendo que as jumentas mantêm com sucesso uma gestação resultante da transferência de um embrião equino (égua x cavalo) (Allen, 1975; 1982a). Entretanto, as éguas raramente levam à termo gestações envolvendo a transferência de embriões asininos (jumenta x jumento). A remoção cirúrgica desses conceptos, entre os dias 53 e 87 da gestação, revelou ausência absoluta de cálices endometriais no útero dessas fêmeas, associado à carência de eCG na circulação sanguínea (Allen *et al.*, 1987). Segundo Allen (1982), a transferência interespécie de embriões asininos para receptoras equinas seria um modelo de falha gestacional, no qual mais de 80% das fêmeas perdem seus embriões ou abortam entre os dias 80 a 100 da gestação.

Segundo Castro (2008), o útero equino inibe o desenvolvimento dos cálices endometriais de qualquer embrião com genótipo asinino, enquanto o útero da jumenta permite o desenvolvimento normal de um embrião com genótipo equino. Desta forma, verificou-se ser o útero da jumenta mais permissível que o útero da égua em termos da aceitação de gestações inter e intraespécies.

Em um estudo conduzido por Skidmore *et al.* (1989), transferiu-se para receptoras éguas e jumentas, embriões muares idênticos, resultantes da bipartição de uma mórula no sexto dia de desenvolvimento. Percebeu-se a formação de cálices endometriais grandes e bem desenvolvidos no útero da receptora asinina associado à altas concentrações séricas de eCG. Na receptora equina, por outro lado, observou-se baixa concentração plasmática do hormônio e a presença de cálices endometriais pequenos, prematuramente necróticos. Dessa forma, demonstrou-se que fatores uterinos exercem grande influência no desenvolvimento da cinta coriônica e dos cálices endometriais (Allen *et al.*, 1993).

Considerando-se a forte influência exercida pelo genótipo fetal sobre as concentrações hormonais durante a primeira metade da gestação de equídeos, diversos estudos foram conduzidos no sentido de mensurar as concentrações de eCG e de progestágenos nas gestações inter e intraespécies de espécies do gênero *Equus*. Em gestações de bardotos (cavalo x jumenta) observou-se concentrações de eCG e progestágenos bem superiores às observadas em gestações intraespécies de embriões asininos (jumento x jumenta) o mesmo podendo ser dito quanto às gestações equinas (cavalo x égua). Entretanto, as menores concentrações de eCG foram oriundas de gestações envolvendo embriões muares (jumento x égua) (Bielanski *et al.*, 1956; Clegg *et al.*, 1962; Allen, 1969), apesar de não terem sido afetadas as concentrações de progestágenos (Allen, 1975).

Sheldrick *et al.* (1977) mensuraram a taxa de produção e de depuração metabólica da progesterona em três jumentas gestantes de embriões asininos, quatro jumentas gestantes de embriões bardotos e em uma égua gestante de um embrião equino. Os resultados demonstraram taxas de depuração metabólica da progesterona similares nas jumentas com embriões bardotos e asininos. Observou-se, no primeiro grupo, uma maior taxa de produção de progesterona ao invés de um decréscimo na taxa de depuração metabólica. Não se sabe ao certo a razão para a maior concentração de progesterona observada em jumentas gestando bardotos, sugerindo-se que a maior taxa de produção hormonal observada nessas fêmeas pode ser atribuída à presença de grande quantidade de componentes envolvidos em reação cruzada, na circulação sistêmica das mesmas. A influência do genótipo fetal neste caso foi associada a um forte estímulo da função ovariana no período de maiores concentrações de eCG na circulação materna.

Enders *et al.* (1996) compararam histologicamente e ultraestruturalmente a

cinta coriônica de embriões equinos (grupo 1), muares (grupo 2), asininos (grupo 3) e embriões asininos transferidos para o útero de éguas (grupo 4), a fim de determinar possíveis mecanismos envolvidos na falha do desenvolvimento dos cálices endometriais, em gestações resultantes da transferência de embriões asininos à receptoras equinas. A cinta coriônica dos embriões do grupo 4, apresentou tamanho similar ao observado nos embriões oriundos do grupo 3, embora as células trofoblásticas fossem menores, menos organizadas e demonstrassem sinais de degeneração e picnose. Neste modelo de gestação, poucas células da cinta coriônica iniciaram o processo de invasão endometrial quando comparado ao que ocorreu nos grupos 2 e 3. Poucas células coriônicas alcançaram o estroma endometrial e ainda atraíram um grande número de linfócitos para a região. Como resultado, ocorreu pouco ou nenhum desenvolvimento dos cálices endometriais, e por consequência não houve produção e secreção de eCG. Os fatores responsáveis pela ausência de desenvolvimento dos cálices endometriais, fundamentais para a manutenção da gestação na espécie equídea, são desconhecidos.

Boeta e Zarco (2010) monitoraram e compararam as concentrações plasmáticas de eCG, progesterona e sulfato de estrona em gestações normais e nas interrompidas por perda embrionária ou fetal em éguas inseminadas com sêmen de garanhões equinos ou de jumentos. Observou-se, neste experimento, uma incidência de abortos muito superior em éguas inseminadas com jumentos, de 30%, que foi de apenas 5% nas éguas inseminadas com sêmen de cavalos. As concentrações plasmáticas de progesterona foram menores nas éguas servidas por reprodutores jumentos, no período compreendido entre a 8ª semana e os 120 dias de gestação. A partir da 6ª semana observou-se o mesmo comportamento com relação à eCG nas gestações muares, quando comparadas



aos valores obtidos nas gestações intraespécies de equinos. Finalmente, as concentrações de sulfato de estrona somente diferiram entre os dois grupos nas semanas 13 e 14, da gestação, sendo que os maiores valores foram identificados nas éguas servidas por jumentos.

Neste trabalho, a incidência de morte embrionária foi similar entre as éguas cobertas por jumentos (6,2%) ou cavalos (9,1%), período em que as concentrações de progesterona apresentaram padrão similar entre os dois grupos. Com relação à incidência de morte fetal, verificaram-se valores significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) em éguas gestando embriões muares (30%), quando comparados aos observados no grupo de fêmeas, gestando embriões equinos (5%). Dentre as fêmeas que abortaram embriões muares, a insuficiência lútea secundária à deficiência de eCG foi a principal causa do aborto.

A transferência de embriões híbridos (*E. caballus* x *E. asinus*) para mulas vem sendo foco de estudos, já que teoricamente, o problema imunológico que se apresenta na produção de muares poderia ser reduzido com a sua utilização como receptoras, além de conferir a esses animais uma utilidade reprodutiva. As mulas são estéreis devido à diferença cromossômica entre as duas espécies que a originam. No entanto, esta esterilidade está relacionada aos gametas (Bristol, 1993), mas não implica em incapacidade uterina para gestar um embrião (Allen *et al.*, 1985).

Taylor e Short (1973) demonstraram que a meiose das células germinativas da fêmea é parcialmente interrompida durante a vida fetal em embriões mulas, resultando em significativa redução da população de oócitos ao nascimento. No entanto, existem estudos que acompanham a gestação e o parto de mulas férteis (Chandley e Clarke, 1985; Rong *et al.*, 1985). Além disso, mulas estéreis podem possuir o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano funcional

e apresentar estro e ovulação (Benirschke e Sullivan, 1966; Bielanski e Zapletal, 1968).

As gestações estabelecidas a partir da transferência de embriões em fêmeas híbridas representam um modelo de estudo sobre o reconhecimento materno da gestação e sobre as respostas imunológicas da mãe contra os antígenos fetais expressos pelo Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC). Sabe-se que esta resposta é exacerbada em éguas que gestam embriões muares (Benirschke, 1965). Quintero *et al.* (1996) ao transferirem embriões híbridos à duas receptoras mulas, obtiveram um diagnóstico de gestação positivo aos 30 dias pós transferência. No entanto, aos 60 dias de gestação a mesma não se apresentava mais gestante. Os autores desconhecem a causa da reabsorção embrionária, embora apontam como possível causa um protocolo inadequado de progesterona utilizado (Hinrichs *et al.*, 1985). Entretanto, os resultados do trabalho mostraram a possibilidade de uma gestação em uma receptora muar a partir da transferência de um embrião híbrido, obtido do cruzamento de uma égua com um jumento.

Posteriormente, a transferência de embriões equinos para receptoras mulas foi avaliada por Camillo *et al.* (2003). Neste estudo, cinco embriões equinos, resultantes do cruzamento de um cavalo e uma égua, foram transferidos para o útero de duas mulas cíclicas e uma mula acíclica. As receptoras cíclicas foram sincronizadas com as doadoras equinas utilizando-se D-cloprostenol e hCG. À receptora acíclica administrou-se benzoato de estradiol no momento em que a égua doadora apresentou cio e progesterona, da ovulação da doadora até o momento do diagnóstico de gestação. Os três embriões transferidos para o útero da mula acíclica não resultaram em uma gestação positiva, ao passo que os dois embriões transferidos para as receptoras cíclicas resultaram no nascimento de dois produtos vivos.

Neste mesmo estudo, avaliou-se as concentrações de eCG, progesterógenos e estrógenos conjugados totais até por volta dos seis meses de gestação. O pico de concentração e a duração da secreção de eCG diferiram entre as duas mulas gestantes, embora ambas tenham desenvolvido corpos lúteos secundários após os 40 dias de gestação, como ocorre em gestações intraespécies normais de equinos. A elevação das concentrações de estrógeno por volta do dia 90 da gestação apresentou padrão similar ao observado em éguas gestantes. Há que se ressaltar que o parto de ambas as receptoras transcorreu normalmente, tendo as mesmas demonstrado boa habilidade materna e lactação normal, com os produtos nascidos apresentando-se perfeitos e com reflexos de sucção normais. O trabalho demonstrou que uma receptora muar pode gestar um embrião equídeo, normalmente, quando transferido ao seu útero, e originar um produto sadio.

### 3.5. Aspectos relacionados ao gananhão

#### 3.5.1. Frações do ejaculado do gananhão

Segundo Tischner e Kosiniak (1992), a ejaculação em gananhões ocorre em jatos, que variam de 4 a 13, com média de 8. Magistrini (2000) caracterizou de 5 a 8 jatos durante a ejaculação, sendo a composição de cada jato variável. Kosiniak (1975) mostrou que o ejaculado do gananhão é formado por 6 a 9 frações consecutivas, com aproximadamente 70% dos espermatozoides presentes nos três primeiros jatos.

Tischner *et al.* (1974) coletaram os jatos de sêmen individualmente em tubos separados e demonstraram que os jatos iniciais (1 a 3) continham 80% do total de espermatozoides do ejaculado, estando 40% no primeiro, 25% no segundo, e 15% no terceiro jato.

O ejaculado dos equídeos é formado por uma fração pré-espermática, uma porção

rica em espermatozoides e uma fração gelatinosa (Nishikawa, 1959; Kreuchauf, 1984; Davies-Morel, 1999). Secreções da glândula bulbouretral são liberadas primeiramente, na fração pré-espermática. Secreções epididimárias e da ampola aparecem na fração rica em espermatozoides e, finalmente, compondo as últimas frações do ejaculado, observam-se as secreções da glândula vesicular (Kreuchauf, 1984; Magistrini, 2000).

#### 3.5.2. Características físicas e morfológicas do sêmen

##### 3.5.2.1. Coloração e aspecto do sêmen

A cor do sêmen do gananhão pode variar de branco acinzentado até branco leitoso (Papa *et al.*, 2007). Ocasionalmente observa-se presença de sangue ou urina, embora não seja comum nem desejável (Martinez, 1992).

A densidade varia do tipo aquoso a leitoso, o que está diretamente relacionado à concentração espermática. O odor é "suis-generis" (Papa *et al.*, 2007).

##### 3.5.2.2. Volume de sêmen

Os equídeos e o varrão, dentre os reprodutores das espécies domésticas, são os que apresentam maiores volumes de ejaculados, sendo que em ordem crescente de volume, estão o jumento, o gananhão e o varrão (Nishikawa, 1959; Kreuchauf, 1984; Davies-Morel, 1999).

O volume do ejaculado dos equídeos apresenta uma variação muito grande entre reprodutores e entre coletas de um mesmo reprodutor. A baixa repetibilidade desta característica está relacionada a muitos fatores, tais como: raça, idade, particularidades individuais, frequência de ejaculação, época do ano, duração do tempo de excitação, tipo de manequim, tempo de

repouso sexual, alimentação, manejo, quantidade de trabalho na estação de monta, presença de gel, dentre outros (Pickett *et al.*, 1970; Pickett *et al.*, 1976; Papa, 1987; Morais, 1990; Gastal, 1991; Samper *et al.*, 2007).

O volume do ejaculado de jumentos sem a fração gelatinosa, encontra-se na amplitude de 10 a 180 ml, sendo que os valores mais frequentes estão em torno de 40 a 100 ml (Nishikawa, 1959; Kreuchauf, 1984; Henry *et al.*, 1987; Morais, 1990; Gastal, 1991; Santos, 1994). Em asininos, segundo observações feitas por Nishikawa (1959), Kreuchauf (1984) e Gebers (1995), a presença de gel é aparentemente uma característica individual dependente do jumento, época do ano, frequência de coleta, excitação sexual, idade, além de diferenças raciais.

Em garanhões, o volume do ejaculado apresenta menor amplitude de variação, de 60 a 80 ml sem a fração gelatinosa, que pode chegar a 40 ml do ejaculado total (Davies Morel, 1999a).

### 3.5.2.3. Pressão osmótica e pH do sêmen

Martinez (1992) mensurou valores de pH no sêmen a fresco do garanhão, variando de 7,45 a 7,58. Valores anormais sugerem infecção ou contaminação com urina. De acordo com Morais *et al.* (1994) os valores de pH para o sêmen de jumentos variaram de 7,0 a 7,8, com média de  $7,29 \pm 0,18$ . A osmolaridade do plasma seminal oscilou entre 273 e 373 mOsm, tendo como média global o valor de  $302,89 \pm 15,03$  mOsm.

### 3.5.2.4. Motilidade e vigor espermáticos

A avaliação dos parâmetros de motilidade e vigor espermáticos é um método rápido, simples e de baixo custo. Contudo, é uma

análise subjetiva e sujeita a erros, e não necessariamente constitui um prognóstico seguro do potencial fecundante do animal (Canisso, 2008).

O percentual de motilidade espermática, particularmente a motilidade progressiva, é um bom indicativo de viabilidade espermática em equídeos (Davies Morel, 1999). Apesar de não ser, necessariamente, um indicador da capacidade fecundante, a motilidade espermática obrigatoriamente deve estar presente para que o espermatozoide possa fecundar (Voss *et al.*, 1981).

O vigor espermático constitui a avaliação subjetiva da força e velocidade espermáticas. Walton (1952) classificou o vigor espermático usando uma escala de 0 a 5, em que zero corresponde ao vigor nulo e 5 ao vigor máximo. Considera-se o vigor ideal  $\geq 3$  (Papa, 2007). Mies Filho (1987) ressalta a importância da avaliação dessa característica para o sêmen de ruminantes. Para o sêmen de equídeos, tal característica não tem sido utilizada com frequência como parâmetro para avaliação da qualidade de sêmen (Gebers, 1995). No entanto, Papa (1987) atribuiu um alto grau de importância ao vigor espermático quando da avaliação de sêmen de garanhões, principalmente para o sêmen congelado.

A motilidade total para o sêmen a fresco de jumentos, segundo os diversos autores, varia de 70% a 100 % (Nishikawa, 1959; Kreuchauf, 1984; Henry *et al.*, 1987; Arruda *et al.*, 1989b; Morais, 1990; Costa, 1991; Gastal, 1991; Santos, 1994).

### 3.5.2.5. Aglutinação espermática

O agrupamento ou aglutinação espermática parece ser um fenômeno normal no sêmen de diversas espécies, incluindo o coelho, o porquinho-da-índia, o varrão e o garanhão (Bedford, 1965; Pickett *et al.*, 1970).

A aglutinação ocorre quando um espermatozoide se liga a outro pela cabeça, sendo o mais frequente, ou pela cauda, como reportado por Bedford, (1965). O mesmo autor demonstrou que a concentração de eletrólitos no diluidor pode influenciar a aglutinação.

Segundo Pickett *et al.* (1970), no garanhão, a aglutinação espermática é altamente sazonal, provavelmente relacionada à mudanças na composição química do plasma seminal. A aglutinação interfere com a motilidade, e sendo assim, quando se pretende realizar mensurações acuradas da motilidade espermática, o sêmen deve ser diluído em um diluidor que previna a aglutinação.

#### 3.5.2.6. Concentração espermática

A concentração espermática é resultante da eficiência espermatogênica e da secreção de fluido pelas glândulas sexuais acessórias (Varner *et al.*, 1991). Juntamente com a motilidade, constitui a avaliação mais frequentemente realizada antes do processamento do sêmen, pois demanda pouco tempo e é imprescindível para o cálculo do número de doses a serem produzidas a partir de um ejaculado (Alkmin, 2010).

Segundo Kreuchauf (1984), a concentração espermática média em jumentos varia de 100 a 800 x 10<sup>6</sup> de espermatozoides por ml, sendo esses valores maiores que os usualmente encontrados em garanhões. No garanhão, a concentração média do ejaculado é de 100 a 200 x 10<sup>6</sup> de espermatozoides por ml, e varia em função da idade, frequência de ejaculação, e da estação do ano (Davies-Morel, 1999a).

Os resultados de uma pesquisa conduzida com testículos de jumentos da raça Pêga, objetivando-se quantificar a espermatogênese usando a técnica de

avaliação histológica, indicaram que esses animais apresentam maior eficiência espermatogênica por grama de parênquima testicular, dentre todos os animais domésticos (Neves *et al.*, 2002). Estes resultados foram similares aos reportados por El Wishy (1974), que, comparando testículos de jumentos e garanhões, registrou o dobro de espermatozoides em testículos de jumentos.

Os estudos realizados até o momento mostram-se controversos no que diz respeito à influência sazonal sobre a produção espermática de asininos. Kreuchauf (1984) não observou influências sazonais na produção espermática de jumentos nas condições da Alemanha. No entanto, Nishikawa (1959) observou fortes variações sazonais na concentração espermática e no volume do ejaculado de jumentos avaliados no Japão, enquanto Gastal (1991), no Brasil, registrou pequenas variações na concentração espermática, sem caracterizar qualquer padrão sazonal.

Em garanhões, a estação do ano afeta o volume e a quantidade de gel, sendo esta abundante no verão e reduzida no outono e inverno em alguns animais desta espécie (Nishikawa, 1959; Pickett *et al.*, 1970).

#### 3.5.2.7. Morfologia espermática

A avaliação das características morfológicas dos espermatozoides apresenta-se como uma das principais formas de se analisar a qualidade seminal. Para vários pesquisadores, a morfologia espermática é um bom parâmetro para predizer a habilidade fecundante (Oehninger *et al.*, 1988; Rigau *et al.*, 2002; Alm *et al.*, 2006). Em equinos, o primeiro trabalho a envolver a morfologia espermática foi de Walton e Fair (1928).

Nishikawa (1959) avaliou o sêmen de jumentos e garanhões e classificou

as alterações morfológicas de acordo com o local onde observava-se a alteração: cabeça, peça intermediária ou cauda. No Brasil, de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (Manual, 1998), quando da avaliação andrológica de reprodutores de todas as espécies, a classificação das anormalidades espermáticas deve ser agrupada em defeitos maiores e defeitos menores, tendo como base a classificação de Blom (1973).

A morfologia espermática de equídeos apresenta similaridade com as demais espécies de animais, embora a cabeça do espermatozoide seja assimétrica e a inserção abaxial da cauda considerada normal. Além disso, o acrossoma é relativamente pouco desenvolvido (Magistrini, 2000).

Nishikawa *et al.* (1951) e Nishikawa (1959), desenvolveram estudos pioneiros visando comparar as características da morfologia espermática entre garanhões e jumentos. Estes autores observaram que os espermatozoides asininos assemelham-se aos dos garanhões; entretanto, apresentam uma cauda mais longa e a cabeça de formato ligeiramente mais globoso, similarmente aos espermatozoides do touro e do carneiro. Adicionalmente, os autores verificaram a presença de uma relação direta entre morfologia espermática e a fertilidade de garanhões. Já em jumentos, há poucos relatos da ocorrência de subfertilidade ou mesmo infertilidade em decorrência de elevados índices de alterações da morfologia espermática (Morais, 1990; Gebers, 1995).

### 3.5.3. Coleta do sêmen

Para que se obtenha máxima eficiência reprodutiva em equinos, deve-se manejar os garanhões de forma a manterem comportamento sexual normal e boa libido, permitindo coletas de sêmen de alta qualidade através de métodos de coleta

apropriados, bem como a intervalos e frequências adequados (Sieme *et al.*, 2004).

A vagina artificial precisa preencher, fundamentalmente, duas condições, sendo a primeira, a boa aceitação por parte do garanhão; e a segunda é que não prejudique o sêmen coletado. Estas condições variam de acordo com o material, a construção e a técnica de manuseio (Davies Morel, 1999a).

Os modelos de vagina artificial desenvolvidos segundo o princípio de estrutura e função, são bastante similares, sendo constituídos por três porções principais: tubo rígido, mucosa de látex interna e copo coletor. O que os diferencia, basicamente, é o material utilizado na fabricação e a sua dimensão (Tischner *et al.*, 1986).

O modelo de vagina artificial proposto por Tischner *et al.* (1974) diferencia-se dos modelos Missouri, Colorado, Hannover e Botucatu apenas pelo fato de ser mais curta, permitindo a exposição da glândula do pênis do garanhão ou do jumento, que ao ejacular propicia uma coleta fracionada do sêmen. Este método de coleta é denominado coleta do tipo aberta, enquanto o método que utiliza os demais modelos mencionados é denominado coleta fechada.

Os modelos fechados são os mais utilizados, devido a sua praticidade durante a coleta. Nesta metodologia, coleta-se todo o ejaculado em um único recipiente. Com a vagina artificial aberta, torna-se possível realizar a coleta fracionada, que consiste em separar as diferentes frações do ejaculado de garanhões (Tischner *et al.*, 1974).

Para se realizar uma boa coleta, a vagina artificial deve propiciar, na base do pênis, pressão e temperatura adequados (Tischner e Kosiniak, 1992). A temperatura da vagina artificial, no momento da coleta, deve ser de 42°C a 45°C (Hafez, 1995; Squires, 1998; Davies Morel, 1999) e proporcionar uma pressão de aproximadamente 66 mm/Hg (Tischner e Kosiniak, 1992; Katila, 1997).

### 3.5.3.1. Coleta fracionada

A coleta fracionada, realizada por meio de vagina artificial aberta, apresenta algumas vantagens em relação à fechada, dentre elas, proporciona menor contaminação bacteriana e possibilita a separação da porção gelatinosa do sêmen da porção rica em espermatozoides. Além disto, há evidências de que a porção rica em espermatozoides, ou seja, a primeira fração, é mais tolerante ao resfriamento do que o ejaculado total (Varner *et al.*, 1987; Lindenberg *et al.*, 1998). Entretanto, este método de coleta não é frequentemente utilizado pela menor praticidade, pois existe o risco da perda de parte do ejaculado e exige a sincronia de dois técnicos durante a coleta (Tischner e Kosiniak, 1992).

Estudo conduzido por Sieme *et al.* (2004), demonstrou que o volume de sêmen obtido com a coleta fracionada foi menor que todo o ejaculado. A concentração espermática por mL de sêmen foi maior no sêmen fracionado quando comparado ao sêmen não fracionado. Além disso, a fração espermática rica apresentou 45,3% do volume e 73,2% da contagem espermática total, quando comparada ao ejaculado não fracionado. O método de coleta não influenciou a motilidade ou a viabilidade do sêmen.

O mesmo estudo mostrou que a coleta fracionada do sêmen associada à centrifugação antes do congelamento, aumentou a motilidade progressiva pós-descongelamento e a integridade da membrana quando comparada às frações ricas não submetidas à centrifugação, ou a ejaculados não fracionados e centrifugados.

Já Vidament *et al.* (2001) mostraram que a redução do plasma seminal por centrifugação antes do congelamento mostrou-se mais benéfica que a coleta fracionada do sêmen de garanhões. Dessa forma, a coleta fracionada sem centrifugação para eliminar os efeitos deletérios do plasma

seminal não parece melhorar a qualidade do sêmen após o congelamento-descongelamento. Por outro lado, o sêmen coletado com vagina artificial aberta apresenta menor contaminação, o que pode ser uma vantagem quando do seu armazenamento.

Apesar da participação dos constituintes do plasma seminal em diversos eventos fisiológicos, a sua presença, durante o processo de resfriamento e criopreservação, parece deletéria ao sêmen bovino (Martinus *et al.*, 1991; Bergeron *et al.*, 2004) e equino (Jasko *et al.*, 1992; Brinsko *et al.*, 2000; Moore *et al.*, 2005). No que diz respeito ao sêmen asinino, os efeitos da remoção do plasma seminal antes do resfriamento do sêmen permanecem controversos, sendo observados efeitos benéficos da remoção do plasma seminal em alguns experimentos (Dalmau, 2003), enquanto outros não observaram diferenças na qualidade do sêmen armazenado na presença ou ausência do plasma seminal (Ferreira *et al.*, 1991; Rota *et al.*, 2008). Em equinos, Jasko *et al.* (1992) demonstraram vantagens na manutenção da viabilidade espermática quando o plasma seminal foi removido apenas quando da utilização de diluidores a base de gema de ovo. A coleta fracionada surge como alternativa para remoção do plasma seminal, eliminando os efeitos deletérios da centrifugação sobre a motilidade espermática. Entretanto, não existem relatos na literatura envolvendo a utilização do sêmen asinino coletado de forma fracionada para a inseminação de éguas ou jumentas.

Mello *et al.* (2000) observaram que a preservação do sêmen de jumentos à 5°C, coletado de forma fracionada, não melhorou a longevidade e preservação da integridade espermática quando comparado à preservação do ejaculado total.

Por outro lado, Varner *et al.* (1987) demonstraram que a fração espermática rica é superior a todo o ejaculado, sendo

resultados similares apresentados por Katila *et al.* (2002). No entanto, trabalhos utilizando a coleta fracionada do sêmen e o resfriamento, mostraram que as últimas frações do ejaculado mantiveram uma motilidade superior à da fração rica (Katila *et al.*, 2004; Akcay *et al.*, 2006).

Os resultados acerca dos benefícios da coleta fracionada ainda são conflitantes, e a literatura existente, escassa. Mais estudos nesse sentido se fazem necessários a fim de aprimorar as técnicas de armazenamento do sêmen equídeo.

### 3.5.3.2. Frequência de coletas

Os programas de inseminação artificial envolvendo garanhões recomendam uma coleta de sêmen por dia, em dias alternados (Pickett *et al.*, 1975). Os efeitos da frequência e do intervalo entre coletas sobre a fertilidade não foram ainda determinados. Além disso, faltam estudos sobre os efeitos do esquema de coleta sobre a qualidade do sêmen durante a estocagem, seja pelo resfriamento ou congelamento (Sieme *et al.*, 2004).

Sieme *et al.* (2004) demonstraram que os primeiros ejaculados de coletas duplas, realizadas a cada 48 horas, diferiram significativamente dos ejaculados obtidos a partir de uma única coleta diária. Os segundos ejaculados das coletas duplas foram significativamente reduzidos em volume, concentração espermática, número total de espermatozoides e apresentaram uma motilidade progressiva inferior após estocagem por 24 horas à 5°C, quando comparados aos primeiros ejaculados de coletas duplas. Coletas únicas diárias e os segundos ejaculados de coletas duplas quando comparados ao primeiro ejaculado de coletas duplas mostraram um menor percentual de espermatozoides vivos após o congelamento-descongelamento (Sieme *et al.*, 2004).

### 3.5.4. Resfriamento do sêmen de equídeos

Um dos maiores responsáveis pelo uso crescente do sêmen resfriado é a alta proporção de garanhões (20-40%) cujo sêmen responde pobremente à criopreservação (Vidament *et al.*, 1997). Além disso, o domínio do resfriamento do sêmen tem sido de grande interesse, uma vez que mantêm a fertilidade do mesmo por intervalos de 1 a 3 dias, permitindo seu transporte. O sucesso da utilização do sêmen resfriado/armazenado depende de uma série de fatores, dentre os quais se destacam a temperatura de estocagem, a composição do diluidor, o número de espermatozoides por dose inseminante, bem como o número de inseminações (Battelier *et al.*, 2001).

Em muitas raças asininas, principalmente em populações restritas, o uso do sêmen resfriado pode ser o melhor método para melhorar a eficiência reprodutiva e evitar a consanguinidade.

Apesar da difusão do uso desta biotécnica, há uma variação considerável nas taxas de fertilidade do sêmen equino refrigerado transportado (Pickett, 1995; Katila, 1997). Taxas de concepção, ao primeiro ciclo, entre 39 e 65% têm sido encontradas na literatura (Douglas-Hamilton *et al.*, 1984; de Vries, 1987; Loomis, 1992; Metcalf 1995; Henderson *et al.*, 1998; Manning *et al.*, 1998).

A duração da estocagem, ou seja, o intervalo de tempo em que o sêmen pode ser armazenado e ainda manter a sua capacidade fecundante pode ser influenciada pelo diluidor, temperatura de armazenamento e variabilidade individual do garanhão (Pickett *et al.*, 1987). Os resultados descritos por Pickett (1995) mostraram que à medida que o tempo de armazenamento aumenta, a fertilidade é reduzida, particularmente quando o sêmen é armazenado por tempo superior à 12 horas a uma temperatura de 20°C, e à 48 horas, a uma temperatura de

5°C. Entretanto, Francl *et al.* (1987) obtiveram uma fertilidade razoável (62%) com o sêmen resfriado a 20°C durante 24 horas, apesar do decréscimo significativo da motilidade espermática progressiva (19%).

A relação entre motilidade e fertilidade permanece obscura, em parte pela natureza subjetiva deste tipo de avaliação e pela variação existente entre ganhões, bem como entre ejaculados de um mesmo ganhão (Douglas-Hamilton *et al.*, 1984; de Vries *et al.*, 1987; Jasko *et al.*, 1991). Deste modo, a única maneira precisa de se medir a capacidade fertilizante do sêmen é através dos testes de fertilidade *in vivo* (Varner *et al.*, 1987).

#### 3.5.4.1. Influência da taxa de resfriamento e do choque térmico sobre a membrana plasmática dos espermatozoides

O armazenamento do sêmen diluído à baixas temperaturas prolonga a viabilidade espermática pela redução do consumo de energia e da formação de subprodutos do metabolismo (Althouse *et al.*, 1998). O resfriamento à 5°C é necessário para a estocagem do sêmen por determinado período de tempo ou para iniciar o processo de congelamento.

Ao se resfriar o sêmen de 37°C para 5°C, a taxa de resfriamento deve ser controlada, principalmente entre 19°C e 8°C, intervalo em que pode ocorrer o choque térmico (Moran *et al.*, 1992), pois os lipídios da membrana estão passando pela fase de transição, do estado fluido para o gel (Stryer, 1992). As membranas espermáticas são as estruturas mais afetadas pelo choque térmico (Amann e Graham, 1993).

Para a manutenção da capacidade fertilizante da célula espermática, é fundamental que suas membranas estejam íntegras. Aurich (2005) define como consequências do choque térmico as alterações caracterizadas

por um modelo anormal de deslocamento, rápida queda da motilidade espermática, lesões nas membranas, redução do metabolismo, perda de enzimas e de outros componentes intracelulares. A membrana plasmática, afetada pelo frio, pode sofrer mudanças na permeabilidade e mudanças funcionais e metabólicas, capazes de prejudicar a motilidade e a capacidade fecundante dos espermatozoides (Amann e Graham, 1993).

O choque térmico é oriundo do resfriamento abrupto e acarreta migração de proteínas de membrana, o que aumenta a aglomeração das mesmas na superfície da célula, resultando em alteração da fluidez dos fosfolipídios da membrana plasmática durante o resfriamento (Oliveira, 2007).

O aumento da concentração de proteínas em um determinado espaço da membrana plasmática favorece a instabilidade dos fosfolipídios. Essa instabilidade está associada ao aumento da permeabilidade celular a íons extracelulares, característica que potencializa os efeitos deletérios do choque térmico, principalmente diante de grandes concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (Holt, 2000).

O colesterol estabiliza a membrana plasmática e reduz a temperatura de transição, podendo, quando presente em altas concentrações, eliminar esta fase (Stryer, 1992; Alberts *et al.*, 1999). Algumas espécies possuem espermatozoides muito resistentes ao choque térmico, associados, normalmente, à altas concentrações de colesterol na membrana plasmática. A espécie equina apresenta teor de colesterol bastante inferior ao de fosfolipídios (razão de 0,36), o que acarreta maior sensibilidade aos danos causados pelo resfriamento (Amann e Graham, 1993).

Stryer (1992) e Alberts *et al.* (1999) relataram uma melhora da motilidade espermática ao adicionarem colesterol ao diluidor para refrigeração de sêmen equino durante 24 e 48 horas. Além disso,



garanhões que apresentavam sêmen com baixa resistência à refrigeração, apresentaram 50% de aumento na motilidade espermática após a adição do colesterol.

Outro fator importante a ser considerado é o fato de o espermatozoide equino apresentar sinais de capacitação prematura associada à criopreservação (Cormier *et al.*, 1997). Há evidências substanciais de que a criopreservação promove a capacitação espermática (Bailey *et al.*, 2000; Watson *et al.*, 2000), sendo esta criocapacitação frequentemente citada como um dos fatores associados à redução da longevidade espermática no sistema genital da fêmea (Bailey *et al.*, 2000).

Se as membranas celulares estiverem protegidas durante a refrigeração e as funções espermáticas forem preservadas até o momento da inseminação, espera-se que ocorra aumento da longevidade espermática por redução da utilização das reservas de ATP, possibilitando que o ejaculado seja utilizado por longos períodos após a sua obtenção (Varner *et al.*, 1989).

#### 3.5.4.2. Curva de resfriamento do sêmen de equídeos

Um dos maiores entraves ao congelamento do sêmen de garanhões é a baixa resistência dos espermatozoides ao resfriamento. Para controlar tais dificuldades, busca-se, dentro de novos protocolos, amenizar a curva de resfriamento previamente ao congelamento, principalmente nas faixas de temperaturas consideradas críticas aos espermatozoides (Watson e Morris, 1987; Vidament *et al.*, 2000).

Neste sentido, Douglas-Hamilton *et al.* (1984) verificaram que taxas de resfriamento iniciais superiores a  $-1^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ , como as muito lentas ( $<0,05^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ ) foram deletérias para a motilidade e morfologia espermáticas. Diante dessa demanda, os pesquisadores

idealizaram um contêiner capaz de proporcionar uma taxa de resfriamento inicial de aproximadamente  $-0,3^{\circ}\text{C}/\text{min.}$  De fato, Province *et al.* (1985) verificaram uma redução significativa da motilidade espermática quando compararam a imersão direta do sêmen em água a  $5^{\circ}\text{C}$  com taxas de resfriamento de  $-1,0$ ,  $-0,5$  e  $-0,2^{\circ}\text{C}/\text{min.}$

Da mesma forma, Varner *et al.* (1989) verificaram que taxas de resfriamento mais lentas ( $-0,240 \pm 0,042^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ ), durante os primeiros 15 minutos, proporcionaram melhores valores de motilidade quando comparadas às taxas mais rápidas ( $-1,091 \pm 0,003^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ ). Por outro lado Mattos (1995), ao utilizar uma taxa de resfriamento inicial de  $-1,0^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ , não observou diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as taxas de concepção obtidas com o sêmen a fresco ou refrigerado por 24 horas à  $4^{\circ}\text{C}$ , de 75,7% e 58,6%, respectivamente.

De acordo com Ferreira (1993) os componentes do diluidor modificaram o tempo de preservação do sêmen de jumentos. Assim, ao estudar o efeito da taxa de resfriamento sobre a longevidade espermática, aferida através da motilidade total, progressiva e vigor, não observaram diferenças entre as taxas de  $-0,6^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ ,  $-0,3^{\circ}\text{C}/\text{min.}$  e  $-0,2^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ , quando o sêmen foi diluído em diluidor à base de leite. Entretanto, quando utilizou-se um diluidor à base de gema de ovo, a taxa de resfriamento de  $-0,6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  respondeu por uma maior longevidade espermática.

Parece haver consenso entre os pesquisadores sobre a necessidade de se utilizar taxas de resfriamento lentas, não superiores a  $-0,05^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , entre  $19$  e  $8^{\circ}\text{C}$ , em virtude de ser esta uma fase crítica de ocorrência das lesões nas membranas espermáticas (Kayser *et al.*, 1992; Moran *et al.*, 1992; Amann e Graham, 1993; Squires *et al.*, 1999).

### 3.5.4.3. Diluidores

A expansão da inseminação artificial nos animais de produção foi intimamente associada à descoberta de diluidores, que melhoram e mantêm a qualidade do sêmen (Berliner, 1942). Os diluidores ou extensores de sêmen são soluções destinadas a proteger os espermatozoides de condições desfavoráveis e prolongar a sua sobrevivência durante a refrigeração e o transporte, além de apresentarem a vantagem de aumentar o volume da dose inseminante e auxiliarem na avaliação do sêmen (Pickett e Shiner, 1994; Darenius, 1998).

Os diluidores utilizados para o sêmen de equídeos são constituídos por água, tampões e substâncias não iônicas, açúcares e diferentes tipos de macromoléculas e antibióticos (Amann e Pickett, 1987).

De maneira geral, os diluidores podem ser divididos em quatro grupos: salinos, acrescidos de gema de ovo, de leite e derivados, e os que apresentam albumina sérica bovina (Amann e Pickett, 1987; Silva Filho et al., 1994; Boeta et al., 2000; Mello et al., 2000) em sua formulação.

Um bom diluidor ou extensor para o sêmen de equídeos, segundo Amann e Pickett (1987) e Silva Filho et al. (1994) deve proporcionar: pressão osmótica compatível com a célula espermática de acordo com a modalidade de processamento do sêmen; apropriado equilíbrio mineral; combinação adequada de nutrientes; capacidade de neutralizar catabólitos espermáticos; substâncias protetoras para as variações de temperatura, principalmente para o frio; capacidade de estabilização de membranas e sistemas enzimáticos; ausência de microorganismos patogênicos; apresentar baixo custo; fácil aquisição; baixa irritabilidade ao sistema genital; e não oferecer toxicidade aos espermatozoides.

A maioria dos diluidores utilizados para o sêmen de equídeos em todo o mundo envolve os à base de gema de ovo, leite e seus derivados, além de outros diluidores a base de gema e soluções poli-iônicas em menor escala (Carvalho, 1992; Boeta e Zarco, 2000; Aurich, 2008; Vidament et al., 2008).

Phillips (1939) foi o primeiro a relatar o uso da gema de ovo como componente de diluidores para o sêmen de touros. Além disso, Lardy e Phillips (1939) foram os primeiros a citar a gema de ovo como componente de diluidor seminal para equinos. Berliner (1942), baseando-se nos dois trabalhos anteriores, foi quem primeiro utilizou a gema de ovo para diluidores seminais de jumentos e garanhões na rotina de uma central de reprodução equídea nos Estados Unidos.

Desde então muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos, bem como citações da utilização na rotina da reprodução equídea, da gema de ovo como constituinte de diluidores para o sêmen resfriado ou congelado de garanhões (Nagase et al., 1966; Martin et al., 1979; Cochran et al., 1984; Papa, 1987; Silva Filho et al., 1987; Carvalho, 1992; Klug, 1992; Carvalho et al., 1998), bem como para o sêmen de jumentos (Vieira et al., 1985; Piao et al., 1988; Arruda et al., 1989; Santos, 1994; Silva, 1995; Papa et al., 1999; Melo et al., 2000; Oliveira et al., 2006; Vidament et al., 2008).

A gema de ovo de galinha é a mais empregada na formulação de diluidores para equídeos. Entretanto, Trimeche et al. (1998) registraram melhores resultados quando do congelamento de sêmen de jumentos, ao utilizarem diluidores à base de gema de ovo de codorna; Culow et al. (2007), por outro lado, demonstraram benefícios com o uso da gema de ovo de pata para o sêmen de garanhões.

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) da gema de ovo têm sido incriminadas como responsáveis pelos fatores de proteção

contra o choque pelo frio, como proposto por Bogart e Mayer (1950) e reafirmado por Pace e Graham (1974). Não se sabe ao certo qual o mecanismo utilizado pela LDL para proteger os espermatozoides à baixas temperaturas. Entretanto, Manjunath *et al.* (2002) e Bergeron *et al.* (2004), em estudos envolvendo o sêmen criopreservado de bovinos, apontaram para uma interação entre as proteínas presentes no plasma seminal de touros e a LDL (Bergeron *et al.*, 2004). Provavelmente, mecanismo de proteção similar ocorra em equídeos (Canisso, 2008).

Em 1987, Silva Filho *et al.* modificaram o diluidor à base de lactose e gema de ovo preconizado por Nagase e Graham (1964), para ser utilizado no sêmen de bovinos. Após a retirada do glicerol, utilizaram-no como diluidor de sêmen de equinos para inseminação com sêmen a fresco diluído ou diluído e transportado. O diluidor vem sendo utilizado no Brasil e tem respondido por resultados de fertilidade equiparáveis ou superiores aos obtidos com o diluidor de Mínima Contaminação (Kenney *et al.*, 1983), a base de leite em pó desnatado-glicose, (Carvalho, 1992; Carvalho, 1994; Silva Filho *et al.*, 1997; Silva Filho *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 2000).

Em outro trabalho, Silva Filho *et al.* (1994) comparou a fertilidade de éguas inseminadas utilizando-se sêmen *in natura* ou diluído, com os seguintes diluidores: leite em pó desnatado-glicose; lactose-gema de ovo; e glicina-gema de ovo. Não se observou, neste experimento, diferenças entre os tratamentos.

Na mesma linha de pesquisa, Silva Filho *et al.* (1998), trabalhando com garanhões da raça Mangalarga Marchador, utilizou sêmen diluído e transportado à 20°C no contêiner MSP-2 (Palhares, 1997), utilizando dois tipos de diluidores: glicina-gema ou lactose-gema. Os resultados analisados através das taxas concepção mostraram-se similares entre os diluidores.

Ferreira (1993) comparou dois diluidores, sendo um à base de gema de ovo e outro à base de leite em pó, para a preservação do sêmen asinino, mantido sob refrigeração ativa entre 4°C e 6°C. A partir de 24 horas, a autora observou maiores motilidade espermática total, progressiva e vigor para o sêmen diluído em meio à base de gema de ovo.

O efeito de dois diferentes diluidores, à base de leite em pó desnatado-glicose ou glicina-gema de ovo, sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco diluído, ou diluído e resfriado à 5°C, por 12 horas foi avaliado por Rossi (2008). Neste trabalho, não se observou influência do diluidor ( $p>0,05$ ) sobre as taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído ou diluído e resfriado.

Tekin *et al.* (1989) verificaram uma superioridade dos valores de motilidade e morfologia espermáticas quando o sêmen foi preservado por até 72 horas em diluidor à base de glicina-gema de ovo, quando comparado ao leite desnatado.

Ao avaliarem diferentes protocolos para o congelamento do sêmen asinino, Jepsen *et al.* (2010) observaram que a inclusão de 20% de gema de ovo ao meio diluidor resultou em prejuízos à fertilidade. Quando comparou os tratamentos: I) diluidor contendo 20% de gema de ovo; II) diluidor contendo 5% de gema de ovo e III) diluidor contendo 20% de gema de ovo + 60mM de  $\beta$  metil-ciclodextrina, observou-se taxas de concepção de 6,3% (1/15); 46,5% (20/43) e 58,3%(14/24) em éguas. Diante da capacidade da ciclodextrina em se ligar ao colesterol, os autores concluíram que, neste experimento, esta molécula foi capaz de sequestrar colesterol suficiente para inibir os efeitos das altas concentrações de gema de ovo (possível fonte de colesterol), sobre a capacidade fertilizante dos espermatozoides asininos pós-descongelamento.

Squires *et al.* (1999) e Bruemmert *et al.* (2002) relataram que a adição de

antioxidantes aos diluidores pode ser benéfica para preservar a motilidade e a integridade da membrana espermática, e assim, a longevidade do sêmen. Kankofer *et al.* (2005) verificaram que a adição do diluidor EquiPro® aumentou a atividade de três enzimas antioxidantes, ou seja, da glutatona peroxidase, da superóxido dismutase e da catalase, presentes no plasma seminal, ao refrigerar o sêmen equino à 5°C/24 horas, quando comparado ao sêmen *in natura*. Entretanto, Ball *et al.* (2001) não observaram efeito benéfico de diferentes substâncias antioxidantes hidro ou lipossolúveis, sobre a preservação da motilidade durante 72 horas de estocagem.

Amann e Graham (1993) citam que algumas substâncias quelantes, como o ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), ao serem adicionadas aos meios diluidores, se ligam ao Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>, reduzindo a perda de íons intracelulares e minimizando as lesões causadas pelo choque térmico.

Em uma tentativa de minimizar os efeitos provocados pelo estresse térmico causado pelo resfriamento do sêmen equino, Goulart *et al.* (2004) utilizaram um indutor de funcionalidade, a pentoxifilina, que adicionada ao ejaculado diluído e refrigerado à 5°C, *in vitro*, melhorou a maioria dos parâmetros espermáticos relacionados à motilidade. Os resultados positivos, provavelmente, estiveram associados ao aumento da concentração intracelular de nucleotídeos cíclicos, em especial da adenina monofosfato cíclica (AMPC) e da guanosina monofosfato cíclica (GMPc).

A utilização de antibióticos nos diluidores é recomendada a fim de se minimizar o crescimento bacteriano durante o armazenamento do sêmen, até o momento da inseminação. Entretanto, estes não devem interferir na qualidade seminal ou mesmo impedir o estabelecimento da microflora vaginal, o que poderia

favorecer o crescimento de microorganismos patogênicos (Darenius, 1998).

Modificações na composição dos diluidores para a preservação do sêmen equino resfriado têm sido estudadas a fim de se promover um aumento da longevidade espermática. Diferentes antibióticos, tampões, açúcares e mais recentemente, a adição de agentes indutores de funcionalidade da célula espermática estão sendo investigados a fim de se obter uma melhor preservação do ejaculado de garanhões com baixa qualidade seminal (Nunes, 2006).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Localização, condições climáticas e período experimental

O presente trabalho envolveu o acompanhamento gestacional de éguas inseminadas com sêmen a fresco (experimento IIa) ou diluído e resfriado (experimento IIb), na Estação de Monta 2007/2008 (Rossi, 2008); das éguas inseminadas com sêmen submetido à coleta fracionada, diluído e resfriado, na Estação de Monta 2010/2011 (experimentos IIIa e IIIb – Carvalho, 2011); bem como de gestações de éguas cobertas por monta natural por jumentos ou garanhões (experimento IV), na estação de monta 2010/2011. Durante as estações de monta trabalhadas, foram mensuradas 167 vesículas embrionárias (experimento I), em altura (mm) e largura (mm), de éguas com gestações interespecies. Finalmente, os dados das éguas obtidos nos experimentos II, III e IV foram agrupados, compondo o experimento V.

Todos os experimentos foram realizados no município de Lagoa Dourada, Estado de Minas Gerais, Brasil, situado a 20° 54' 50'' de latitude S e 44° 4' 40'' de longitude W Gr., em uma altitude média de 1124 metros. O município apresenta clima do tipo Cwa, com inverno seco e verão chuvoso (de acordo com a classificação climática de

Köppen-Geiger), segundo o 5° Distrito de Meteorologia do Ministério da Agricultura e Abastecimento.

Os experimentos IIa e IIb que compõe o experimento II do presente trabalho (Rossi, 2008), foram conduzidos na Fazenda do Váú, no intervalo compreendido entre os meses de outubro de 2007 a março de 2008, estando os dados climáticos médios correspondentes ao período experimental apresentados na tabela 1.

Os experimentos IIIa e IIIb, que compõe o Experimento III do presente trabalho (Carvalho, 2011), bem como o experimento IV, foram realizados na Fazenda Santa Edwiges, compreendendo o período experimental de outubro de 2010 a junho de 2011, estando os dados climáticos médios do período apresentados na tabela 2. Os experimentos I e V envolveram o agrupamento de dados obtidos nos três períodos experimentais mencionados (Experimentos II, III e IV) conduzidos nas duas localidades supracitadas.

Tabela 1. Dados meteorológicos médios do período experimental relativos ao experimento II

<b>Período (mês/ano)</b>	<b>Temperatura ambiente (°C)</b>	<b>Precipitação (mm/mês)</b>	<b>Umidade Rel. do Ar (%)</b>	<b>Insolação* diária (horas)</b>
Outubro/2007	21,6	141,8	66	4,9
Novembro/2007	20,9	123,8	78	5,6
Dezembro/2007	22,1	262,2	75	4,7
Janeiro/2008	21,1	153,4	79	5,5
Fevereiro/2008	21,6	197,4	79	5,7
Março/2008	21,2	268,4	79	5,7

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), 5° Distrito de Meteorologia (DISME).

\*Média de 1961-1990. Horas de sol direto, sem obstrução de nuvens

Tabela 2. Dados meteorológicos médios do período experimental relativos aos experimentos III e IV

<b>Período (mês/ano)</b>	<b>Temperaturas Médias (°C)</b>		<b>Precipitação (mm/mês)</b>	<b>Insolação* diária (horas)</b>
	<b>Mínima</b>	<b>Máxima</b>		
Outubro/2010	26,9	15,5	207,8	4,9
Novembro/2010	26,5	16,9	213,0	5,6
Dezembro/2010	29,2	18,4	420,4	4,7
Janeiro/2011	28,3	18,1	284,2	5,5
Fevereiro/2011	28,4	17,6	86,1	5,7
Março/2011	26,7	18,1	297,7	5,7
Abril/2011	27,1	16	58,6	-
Maió/2011	24,5	12,2	14,6	-
Junho/2011	22,8	10,2	48,1	-

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), disponível em [www.agritempo.gov.br](http://www.agritempo.gov.br)

\*Média de 1961-1990. Horas de sol direto, sem obstrução de nuvens

## 4.2. Delineamento experimental

4.2.1. Experimento I – Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespecies.

Foram mensuradas um total de 167 vesículas embrionárias, em altura (mm) e largura (mm), de éguas com gestações interespecies (égua x jumento), no período de 10 a 37 dias de gestação.

Na estação de monta 2007/2008, avaliou-se 98 vesículas, com idades entre 10 e 31 dias. As imagens foram obtidas por meio de ultrassonografia<sup>1</sup>, e impressas<sup>2</sup>. Posteriormente, as impressões foram digitalizadas, como demonstrado na figura 1, e as vesículas mensuradas através do programa Image J<sup>3</sup>, seguindo a mesma escala e procedimento utilizados nas 69 mensurações da estação de monta 2010/2011 (figura 2).

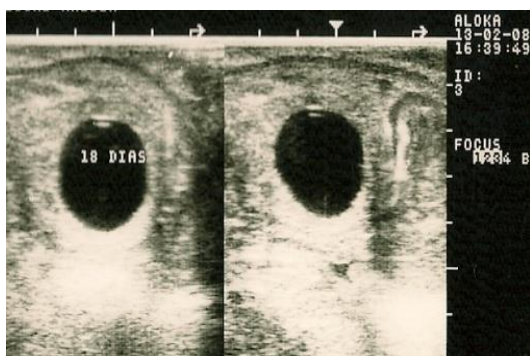


Figura 1. Imagem digitalizada de vesícula embrionária aos 18 dias de gestação, obtida na estação de monta 2007/2008, à qual foi mensurada através do programa Image J<sup>3</sup>

Na estação de monta de 2010/2011 mensuraram-se 69 vesículas entre 12 e 37 dias de gestação. As imagens foram obtidas durante os diagnósticos de gestação, por meio de ultrassonografia<sup>4</sup>, sendo as vesículas mensuradas no próprio aparelho, como demonstrado na figura 2.

As 167 vesículas obtidas foram agrupadas por idade gestacional, e através das medidas de altura e largura (mm) obtidas, foram calculadas as médias correspondentes a cada fase, possibilitando a construção de uma curva de desenvolvimento embrionário, dos 10 aos 37 dias.

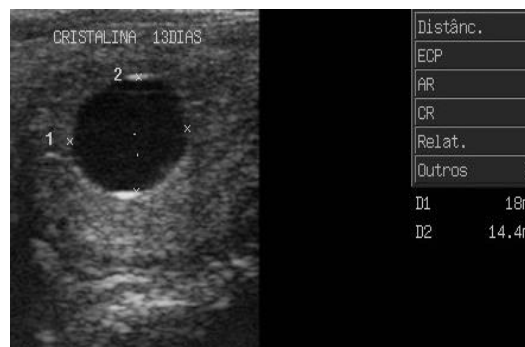


Figura 2. Mensuração de vesícula embrionária aos 13 dias de gestação, utilizando-se aparelho ultrassonográfico<sup>4</sup>, durante a estação de monta 2010/2011.

Durante a análise dos dados, formaram-se grupos de acordo com o período gestacional, visando-se estudar a influência do tempo de gestação sobre a largura (mm) e altura (mm) da vesícula embrionária. Os períodos gestacionais avaliados foram:

- |                     |                     |
|---------------------|---------------------|
| 1. 10 dias (n=1);   | 12. 21 dias (n=2);  |
| 2. 11 dias (n=1);   | 13. 22 dias (n=9);  |
| 3. 12 dias (n=16);  | 14. 23 dias (n=4);  |
| 4. 13 dias (n=9);   | 15. 24 dias (n=3);  |
| 5. 14 dias (n=19);  | 16. 25 dias (n=16); |
| 6. 15 dias (n=6);   | 17. 26 dias (n=10); |
| 7. 16 dias (n=11);  | 18. 27 dias (n=12); |
| 8. 17 dias (n=4);   | 19. 28 dias (n=4);  |
| 9. 18 dias (n=6);   | 20. 29 dias (n=3);  |
| 10. 19 dias (n=7);  | 21. 30 dias (n=8);  |
| 11. 20 dias (n=10); | 22. 31 dias (n=2);  |
|                     | 23. 32 dias (n=1);  |
|                     | 24. 33 dias (n=1);  |
|                     | 25. 35 dias (n=1);  |
|                     | 26. 37 dias (n=1).  |

#### 4.2.2. Experimento II

4.2.2.1. Experimento IIa - Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou glicina-gema de ovo (GGO).

<sup>1</sup> Modelo SSD500 (Aloka)

<sup>2</sup> Video Copy Processor Mitsubishi – Modelo P91LO/P91E

<sup>3</sup> Image Processing and Analysis in Java

<sup>4</sup> Modelo DP3300 (Mindray)

Foram utilizados 77 ciclos de 67 éguas mestiças (tabela 3), de 2,5 a 18 anos de idade, pertencentes a quatro categorias reprodutivas (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”). Os animais foram distribuídos, de forma inteiramente casualizada, por meio de sorteio, após agrupamento por idade e categoria reprodutiva. As éguas foram inseminadas com sêmen a fresco diluído, proveniente de quatro reprodutores asininos, nos meses de janeiro a março de 2008, e alocadas em dois grupos experimentais:

**T1** – Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo com 3,0

– 3,5cm de diâmetro até a ovulação, utilizando sêmen a fresco diluído em meio à base de leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983), com dose inseminante de 20 ml e  $400 \times 10^6$  espermatozoides móveis (n = 33);

**T2** – Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo com 3,0 - 3,5cm de diâmetro até a ovulação, utilizando sêmen a fresco diluído em meio à base de glicina - gema de ovo (Foote, 2002), com dose inseminante de 20 ml e  $400 \times 10^6$  espermatozoides móveis (n = 44).

Tabela 3. Distribuição de 77 ciclos de 67 éguas, por jumento e tratamento, no Experimento IIa

Tratamento	Jumento				Total
	1	3	4	5	
1	9	5	6	13	33
2	10	9	10	15	44
Total	19	14	16	28	77

4.2.2.2. Experimento IIb - Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou glicina - gema de ovo (GGO), resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial.

Foram utilizados 195 ciclos de 141 éguas mestiças, com idades variando de 2,5 a 19 anos, pertencentes a quatro categorias reprodutivas (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”). Os animais foram distribuídos, de forma inteiramente casualizada, por meio de sorteio, após agrupamento por idade (tabela 6) e categoria reprodutiva (tabela 5). As éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado de cinco reprodutores asininos, nos meses de outubro de 2007 a janeiro de 2008, e alocadas em dois grupos experimentais:

**T3** – Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo com 3,0 - 3,5 cm de diâmetro até a ovulação, utilizando sêmen diluído em meio à base de leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983), com dose inseminante de 20 ml e  $400 \times 10^6$  espermatozoides móveis, previamente resfriado e estocado por 12 horas, à 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997) (n = 93);

**T4** – Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo com 3,0 - 3,5 cm de diâmetro até a ovulação, utilizando sêmen diluído em meio à base de glicina-gema de ovo (Foote, 2002), com dose inseminante de 20 ml e  $400 \times 10^6$  espermatozoides móveis, previamente resfriado e estocado por 12 horas, à 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997) (n = 102).

Tabela 4. Distribuição dos 195 ciclos de éguas mestiças, por jumento e tratamento, no experimento IIb

Tratamento	Jumento					Total
	1	2	3	4	5	
3	27	1	18	26	21	93
4	31	3	14	28	26	102
<b>Total</b>	58	4	32	54	47	195

Tabela 5. Distribuição dos 195 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva, dentro de cada tratamento, no experimento IIb

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Égua Solteira	Égua Parida	Égua no "Cio do Potro"	
1	6	39	21	27	93
2	7	48	21	26	102
<b>Total</b>	13	87	42	53	195

Tabela 6. Distribuição dos 195 ciclos de éguas mestiças, por idade, dentro de cada tratamento, no Experimento IIb

Tratamento	Idade (anos)				Total
	2,5-6,0	6,5-10,0	10,5-14,0	14,5-19	
1	12	45	18	18	93
2	11	51	23	17	102
<b>Total</b>	23	96	41	35	195

Durante a análise dos dados, subdivisões (A, B, C e D) foram realizadas dentro dos grupos experimentais, visando-se estudar:

A) O efeito da idade das éguas sobre as características reprodutivas:

As fêmeas foram divididas em faixas etárias para comporem os seguintes agrupamentos, quando avaliou-se o efeito da idade das éguas sobre as características reprodutivas estudadas:

1. Éguas com idades de 2,5 a 6 anos (n= 23);
2. Éguas com idades de 6,5 a 10 anos (n = 96);
3. Éguas com idades de 10,5 a 14 anos (n = 41);
4. Éguas com idades de 14,5 a 19 anos (n = 35).

B) O efeito da categoria reprodutiva das éguas sobre a fertilidade:

As fêmeas foram agrupadas de acordo com a categoria a que pertenciam e analisadas quanto às características reprodutivas estudadas:

1. Éguas jovens que nunca gestaram (Potras) (n=13);
2. Éguas vazias da estação anterior (Éguas solteiras) (n=87);
3. Éguas com potro ao pé, inseminadas em um período acima de 20 dias pós-parto (Éguas paridas) (n=42);
4. Éguas com potro ao pé, inseminadas dentro de 20 dias pós-parto (Éguas no "cio do potro") (n=53).



C) O efeito do jumento sobre as características reprodutivas das éguas:

As fêmeas foram agrupadas de acordo com o jumento utilizado para inseminação artificial e analisadas quanto às características reprodutivas:

1. Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído ou diluído e resfriado do jumento 1 (n=77);
2. Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído ou diluído e resfriado do jumento 2 (n=04);
3. Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído ou diluído e resfriado do jumento 3 (n=46);
4. Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído ou diluído e resfriado do jumento 4 (n=70);
5. Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído ou diluído e resfriado do jumento 5 (n= 75).

D) O efeito do mês da concepção sobre as características reprodutivas das éguas:

1. Ovulações ocorridas no mês de novembro (n=70);
2. Ovulações ocorridas no mês de dezembro (n=74);
3. Ovulações ocorridas no mês de janeiro (n=52);
4. Ovulações ocorridas nos meses de fevereiro e março (n=76) – devido ao pequeno número de ovulações ocorridas no mês de março e, não havendo diferenças nas características avaliadas nos dois meses, os mesmos foram agrupados.

Para todos os delineamentos propostos, foram estudadas as seguintes características reprodutivas:

- número de ciclos: refere-se ao número de repetições (“n”) utilizadas em cada tratamento;
- idade: idade média das éguas, em cada tratamento;
- taxa de concepção/ciclo: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada ciclo, multiplicado por 100;

- taxa de concepção total: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada tratamento, multiplicado por 100;
- duração da gestação: refere-se ao intervalo médio, em dias, entre a data da ovulação e a data do parto para as éguas que conceberam e levaram a gestação a termo;
- tempo de gestação ao último controle gestacional: refere-se a idade gestacional em que foi realizado o último exame ultrassonográfico;
- taxa de perda: refere-se ao número de éguas que sofreram perdas gestacionais em relação ao número de éguas que conceberam ou estavam gestantes em determinado período da gestação, multiplicado por 100;
- taxa de perda ajustada: refere-se ao número de éguas que sofreram perdas gestacionais em relação ao número de éguas que conceberam, excluindo-se as éguas das quais não se teve informações sobre o parto, multiplicado por 100;
- taxa de parto: refere-se ao número de partos registrados em relação ao número de éguas que conceberam, multiplicado por 100;
- taxa de parto ajustada: refere-se ao número de partos registrados em relação ao número de éguas que conceberam, excluindo-se as éguas das quais não se teve informações sobre o parto, multiplicado por 100.
- sexo dos produtos - masculino: refere-se ao número de produtos nascidos do sexo masculino em relação ao número total de produtos nascidos, multiplicado por 100;
- sexo dos produtos - feminino: refere-se ao número de produtos nascidos do sexo feminino em relação ao número total de produtos nascidos, multiplicado por 100.

### 4.2.3. Experimento III

4.2.3.1. Experimento IIIa: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou lactose-gema de ovo modificado (LGO), resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial.

Foram utilizados 44 ciclos de 44 éguas mestiças, com idades entre 2,5 e 18 anos, distribuídas uniformemente segundo a idade (tabela 8) e categoria reprodutiva (potra, égua solteira, parida ou no cio do potro) (tabela 9). As éguas foram inseminadas com sêmen de cinco reprodutores asininos, nos meses de outubro e novembro de 2010. Os animais foram distribuídos ao acaso, por meio de sorteio, em 2 grupos experimentais:

**T1** - Éguas inseminadas por até 3 vezes por semana, a partir de um folículo de 3,0 cm

de diâmetro até a ovulação, com sêmen fracionado (Tischner *et al.* 1975), diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983), na dose inseminante de 22 ml e  $400 \times 10^6$  de espermatozoides móveis, resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997) por um período mínimo de 12 e máximo de 24 horas (n=23);

**T2** - Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo de 3,0 cm de diâmetro até a ovulação, com sêmen fracionado (Tischner *et al.* 1975), diluído em diluidor de lactose - gema de ovo modificado (Nagase e Graham, 1964), na dose inseminante de 22 ml e  $400 \times 10^6$  de espermatozoides móveis, resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997) por um período mínimo de 12 e máximo de 24 horas (n=21).

Tabela 7. Distribuição de 44 ciclos de éguas mestiças, por jumento e tratamento, no experimento IIIa

Tratamento	Jumento					Total
	J1	J2	J3	J4	J5	
1	9	3	3	3	5	23
2	8	3	2	2	6	21
<b>Total</b>	17	6	5	5	11	44

Tabela 8. Distribuição de 44 ciclos de éguas mestiças, por idade e tratamento, no experimento IIIa

Tratamento	Idade				Total
	2,5 - 6,5	7,0 - 11,0	11,5 - 15,5	≥ 16	
1	1	15	6	1	23
2	1	11	9	0	21
<b>Total</b>	2	26	15	1	44

Tabela 9. Distribuição de 44 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva e tratamento, no experimento IIIa

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Égua Solteira	Égua Parida	Égua no "cio do potro"	
1	1	12	4	6	23
2	1	8	5	7	21
<b>Total</b>	2	20	9	13	44

4.2.3.2. Experimento IIIb: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em diluidor de leite em pó desnatado glicose (LPDG), resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial, nas doses de 400 ou 800 x 10<sup>6</sup> de espermatozoides móveis.

Foram utilizados 79 ciclos de 59 éguas mestiças, com idades entre 2,5 e 18 anos, agrupadas e uniformizadas segundo a idade (tabela 11) e categoria reprodutiva (potra, égua solteira, parida ou no "cio do potro") (tabela 12). As éguas foram inseminadas com sêmen de cinco reprodutores asininos, no período compreendido entre os meses de novembro de 2010 a janeiro de 2011. Os animais foram distribuídos ao acaso, por meio de sorteio, em 2 grupos experimentais:

**T3** – Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo com 3,0

cm de diâmetro até a ovulação, utilizando sêmen fracionado (Tischner *et al.* 1975), diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983), com dose inseminante de 22 ml e 400 x10<sup>6</sup> de espermatozoides móveis, resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997), por um período mínimo de 12 e máximo de 24 horas (n=41);

**T4** – Éguas inseminadas por até três vezes por semana, a partir de um folículo com 3,0cm de diâmetro até a ovulação, utilizando sêmen fracionado (Tischner *et al.* 1975), diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983), com dose inseminante de 22 ml e 800 x10<sup>6</sup> de espermatozoides móveis, resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997), por um período mínimo de 12 e máximo de 24 horas (n=38).

Tabela 10. Distribuição de 79 ciclos de éguas mestiças, por jumento e tratamento, no experimento IIIb

Tratamento	Jumento					Total
	J1	J2	J3	J4	J5	
3	15	5	7	6	8	41
4	15	5	6	5	7	38
<b>Total</b>	30	10	13	11	15	79

Tabela 11. Distribuição de 79 ciclos de éguas mestiças, por idade e tratamento, no experimento IIIb

Tratamento	Idade				Total
	2,5 – 6,5	7,0 - 11,0	11,5 – 15,5	≥ 16	
3	4	24	12	1	41
4	5	19	13	1	38
<b>Total</b>	9	43	25	2	79

Tabela 12. Distribuição de 79 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva e tratamento, no experimento IIIb

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Égua Solteira	Égua Parida	Égua no "cio do potro"	
3	3	12	12	14	41
4	4	9	15	10	38
<b>Total</b>	7	21	27	24	79

Para a análise dos dados, subdivisões (A, B, C) foram realizadas dentro dos grupos experimentais, visando-se estudar:

A. O efeito do diluidor seminal sobre as taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga;

As fêmeas foram divididas, compondo os seguintes agrupamentos:

1. Éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos, resfriado à 5°C e diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (n=23);

2. Éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos, resfriado à 5°C e diluído em diluidor de lactose-gema de ovo (n=21).

Em função do baixo percentual de perdas gestacionais apresentado, não foi possível a realização das análises estatísticas para esta variável.

B. O efeito da concentração espermática sobre as taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen asinino fracionado, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose:

As fêmeas foram divididas, compondo os seguintes agrupamentos:

1. Éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos, resfriado à 5°C, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose em uma dose inseminante de  $400 \times 10^6$  milhões de espermatozoides móveis (n=41);

2. Éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos, resfriado à 5°C, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose em uma dose inseminante de  $800 \times 10^6$  milhões de espermatozoides móveis (n=38).

Em função do baixo percentual de perdas gestacionais apresentado, não foi possível a realização das análises estatísticas desta variável.

C. O efeito do mês de ocorrência da ovulação sobre as taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga:

1. Ovulações ocorridas no mês de outubro (n=35);

2. Ovulações ocorridas no mês de novembro (n=48);

3. Ovulações ocorridas no mês de dezembro (n=40).

Para todos os delineamentos propostos, foram estudadas as seguintes características reprodutivas:

- número de ciclos: refere-se ao número de repetições (“n”) utilizadas em cada tratamento;
- idade: idade média das éguas, em cada tratamento;
- taxa de gestação/ciclo: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada ciclo, multiplicado por 100;
- taxa de perda: refere-se ao número de éguas que sofreram perdas gestacionais em relação ao número de éguas que conceberam, multiplicado por 100.

4.2.4. Experimento IV: Fertilidade de éguas submetidas à regime de monta natural controlada, utilizando-se reprodutores asininos ou equinos.

Foram utilizados 74 ciclos de 59 éguas mestiças (tabela 13), com idades entre 2,5 e 20 anos (tabela 14), pertencentes a quatro categorias reprodutivas (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”) (tabela 15). As éguas foram submetidas a um regime de monta natural controlada, utilizando-se três reprodutores equinos ou sete reprodutores asininos (tabela 16), no período compreendido entre os meses de

novembro de 2010 a março de 2011, e distribuídas em dois grupos experimentais, a saber:

**T1** – Éguas submetidas a regime de monta natural controlada, a partir de um folículo

de 3,0-3,5 cm de diâmetro até a ovulação, utilizando-se reprodutores asininos (n=36);

**T2** – Éguas submetidas a regime de monta natural controlada, a partir de um folículo de 3,0-3,5 cm de diâmetro até a ovulação, utilizando-se reprodutores equinos (n=38).

Tabela 13. Distribuição das éguas por número, ciclo e tratamento, no experimento IV.

<b>Tratamento</b>	<b>Éguas</b>	<b>Ciclos</b>
<b>1</b>	31	36
<b>2</b>	30	38
<b>Total</b>	61*	74

\*Duas éguas foram utilizadas nos dois tratamentos.

Tabela 14. Distribuição dos 74 ciclos de éguas mestiças, por idade e tratamento, no experimento IV

<b>Tratamento</b>	<b>Idade</b>				<b>Total</b>
	<b>2,5 – 6,5</b>	<b>7,0 - 11,0</b>	<b>11,5 – 15,5</b>	<b>≥ 16</b>	
<b>1</b>	3	15	14	4	36
<b>2</b>	0	16	20	2	38
<b>Total</b>	3	31	34	6	74

Tabela 15. Distribuição dos 74 ciclos de éguas mestiças, por categoria reprodutiva e tratamento, no experimento IV

<b>Tratamento</b>	<b>Categoria Reprodutiva</b>				<b>Total</b>
	<b>Potra</b>	<b>Égua Solteira</b>	<b>Égua Parida</b>	<b>Égua no "cio do potro"</b>	
<b>1</b>	3	14	17	2	36
<b>2</b>	0	17	18	3	38
<b>Total</b>	3	31	35	5	74

Tabela 16. Distribuição dos 74 ciclos de éguas mestiças, por reprodutor e tratamento, no experimento IV

<b>Reprodutor</b>	<b>Espécie</b>	<b>Tratamento</b>		<b>Total</b>
		<b>T1</b>	<b>T2</b>	
1	Equina	24	0	24
2	Equina	08	0	08
3	Equina	06	0	06
4	Asinina	0	05	05
5	Asinina	0	03	03
6	Asinina	0	05	05
7	Asinina	0	02	02
8	Asinina	0	10	10
9	Asinina	0	07	07
10	Asinina	0	04	04
<b>Total</b>	-	38	36	74

Para a análise dos dados, subdivisões (A, B) foram realizadas dentro dos grupos experimentais, visando-se estudar:

A. O efeito do tipo de cruzamento sobre as taxas de gestação/ciclo e de perdas gestacionais de éguas:

Para isso, as fêmeas foram divididas em dois grupos, a saber:

1. Éguas submetidas à cruzamentos intraespécies (égua x garanhões) (n=38);
2. Éguas submetidas à cruzamentos interespécies (égua x jumentos) (n=36).

B. O efeito do mês da ovulação sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies:

As fêmeas foram agrupadas de acordo com o mês de ocorrência da ovulação, sendo:

1. Ovulações ocorridas em outubro (n=5);
2. Ovulações ocorridas em novembro (n=8);
3. Ovulações ocorridas em dezembro (n=20);
4. Ovulações ocorridas em janeiro (n=14);
5. Ovulações ocorridas em fevereiro (n=24);
6. Ovulações ocorridas em março (n=3).

Para todos os delineamentos propostos, foram estudadas as seguintes características reprodutivas:

- número de ciclos: refere-se ao número de repetições (“n”) utilizadas em cada tratamento;
- idade: idade média das éguas, em cada tratamento;
- taxa de gestação/ciclo: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada ciclo, multiplicado por 100;

- taxa de perda: refere-se ao número de éguas que sofreram perdas gestacionais em relação ao número de éguas que conceberam, multiplicado por 100.

4.2.5. Experimento V: Metanálise envolvendo a fertilidade e as perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies

Este experimento compreendeu os dados de fertilidade das éguas utilizadas nos experimentos II, III e IV, envolvendo 384 ciclos de éguas mestiças, com idades variando de 2,5 a 20 anos, e pertencentes à quatro categorias reprodutivas (potras, éguas solteiras, paridas ou no “cio do potro”). As éguas foram distribuídas em dois grupos experimentais, a saber:

T1 – Éguas submetidas à cruzamentos intraespécies (égua x garanhão) (n=38);

T2 – Éguas submetidas à cruzamentos interespécies (égua x jumento) (n=346).

Os dados foram agrupados e submetidos à uma metanálise, com o objetivo de avaliar as taxas de concepção e de perdas gestacionais das éguas pertencentes ao T2, funcionando o T1 como um grupo controle.

Para as análises estatísticas, subdivisões foram realizadas dentro dos grupos experimentais (A,B,C,D), visando-se estudar:

A. O efeito do tipo de cruzamento sobre as taxas de gestação/ciclo e de perdas gestacionais:

Para isso, as fêmeas foram divididas em dois grupos, a saber:

1. Éguas submetidas à cruzamentos intraespécies (égua x garanhão) (n=38);
2. Éguas submetidas à cruzamentos interespécies (égua x jumentos) (n=346).

B. efeito da categoria reprodutiva sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies:

Para isso, as fêmeas foram agrupadas de acordo com a categoria reprodutiva a que pertenciam, sendo:

1. Éguas jovens que nunca gestaram (Potras) (n=13);
2. Éguas vazias da estação anterior (Éguas solteiras) (n=83);
3. Éguas com potro ao pé, inseminadas em um período acima de 20 dias pós-parto (Éguas paridas) (n=81);
4. Éguas com potro ao pé, inseminadas dentro de 20 dias pós-parto (Éguas no “cio do potro”) (n=48).

C. O efeito do mês da ovulação sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies:

1. Ovulações ocorridas em outubro (n=14);
2. Ovulações ocorridas em novembro (n=54);
3. Ovulações ocorridas em dezembro (n=65);
4. Ovulações ocorridas em janeiro (n=35);
5. Ovulações ocorridas em fevereiro (n=50);
6. Ovulações ocorridas em março (n=7).

D. O efeito do bimestre de ocorrência da ovulação sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies:

1. Ovulações ocorridas no bimestre outubro/novembro (n=68);
1. Ovulações ocorridas no bimestre dezembro/janeiro (n=100);
2. Ovulações ocorridas no bimestre fevereiro/março (n=57).

Para todos os delineamentos propostos, foram estudadas as seguintes características reprodutivas:

- número de ciclos: refere-se ao número de repetições (“n”) utilizadas em cada tratamento;
- taxa de gestação/ciclo: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada ciclo, multiplicado por 100;
- taxa de perda: refere-se ao número de éguas que sofreram perdas gestacionais em relação ao número de éguas que conceberam, multiplicado por 100.

### 4.3. Manejo reprodutivo e nutricional das éguas

#### 4.3.1. Experimento II

Foram utilizadas 208 éguas mestiças, sendo 67 no experimento IIa e 141 no experimento IIb. As fêmeas apresentavam idades variando de 2,5 a 19 anos, e pertenciam a quatro categorias reprodutivas (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”).

No início da estação de monta, todas as éguas foram submetidas a um exame ginecológico, constituído de avaliação conformacional da genitália externa e interna através de palpação transretal, acompanhado por exame ultrassonográfico dos ovários e do útero de cada fêmea. A avaliação das éguas paridas iniciava-se a partir do 6º dia pós-parto.

A partir dos resultados obtidos, foram realizados os tratamentos médicos pertinentes. Quando da detecção ultrassonográfica de líquido intrauterino, os animais foram submetidos a um protocolo envolvendo associação de 1,0 ml de ocitocina<sup>5</sup> e 1,5 ml de prostaglandina sintética (d-cloprostenol<sup>6</sup>). Eventualmente, em alguns animais, fez-se necessária associação de antibioticoterapia parenteral com penicilina. Dez éguas pertencentes ao experimento IIa foram assim tratadas, sendo

<sup>5</sup> Postipofisin® - Hertape Calier Saúde Animal

<sup>6</sup> Veteglan® - Hertape Calier Saúde Animal

três éguas pertencentes ao T1 e sete ao T2. No experimento IIb, quatro éguas pertencentes ao T1 e duas ao T2 também foram submetidas ao tratamento mencionado. Correções cirúrgicas vulvo-vaginais (Caslick, 1937) foram realizadas em quatro éguas, sendo que duas participaram dos experimentos IIa e IIb, apenas no T2; e as demais participaram apenas do experimento IIb, uma em cada tratamento.

Para o manejo reprodutivo das éguas durante a estação de monta seguiu-se um organograma de controle reprodutivo, retirado de Rossi (2008), adaptado de Palhares (1987) (figura 3). O controle folicular diário foi registrado por meio de fichas individuais (Anexo 1), obedecendo-se ao sistema métrico proposto por Greenhoff e Kenney (1975).

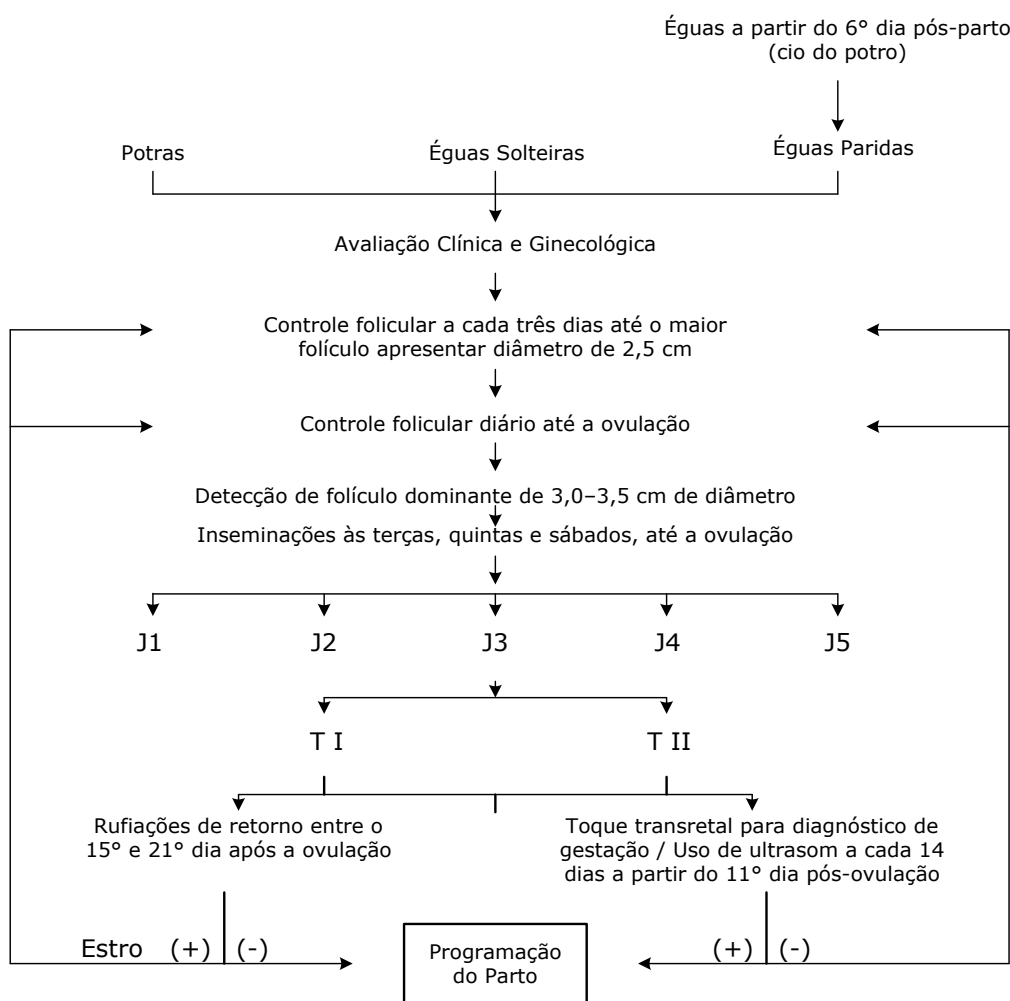


Figura 3 – Organograma para o controle reprodutivo das éguas (Retirado de Rossi, 2008, adaptado de Palhares, 1987).

TI e TII referem-se aos tratamentos 1 e 2; J1, J2, J3, J4 e J5 referem-se aos reprodutores, com exceção do J2 para o experimento IIa.



Dessa forma, as palpações transretais ocorriam a cada três dias até que se detectasse um folículo com 2,0-2,5cm de diâmetro em um dos ovários; sendo, a partir daí, realizadas diariamente. Após a detecção de um folículo dominante, com diâmetro de 3,0-3,5cm, eram iniciadas as inseminações artificiais, em dias fixos (terças, quintas e sábados), até a detecção da ovulação. As rufiações eram realizadas coletivamente (figura 4a) após as palpações transretais, quando as éguas eram soltas em dois currais, separados por um curral central, onde ficava o garanhão. Realizava-se rufiação individualizada (figura 4b) apenas em caso de dúvida, em éguas que apresentavam folículos acima de 2,5-3,0cm de diâmetro em um dos ovários, sem demonstrar sinais externos de cio durante a rufiação coletiva.

Após a ovulação, as éguas eram mantidas afastadas do controle folicular diário, até o momento das palpações e rufiações de retorno, realizadas a partir do 15º dia pós-ovulação, sendo complementadas pelo uso de ultrassonografia. O diagnóstico por imagem iniciava-se num período mínimo de 11 e máximo de 16 dias pós-ovulação, sendo que cada égua positiva era submetida à, pelo menos, dois diagnósticos subsequentes. Das éguas que reabsorveram, apenas aquelas com período gestacional inferior aos 35 dias retornaram para o programa reprodutivo, de acordo com Penzhorn *et al.* (1986).

As éguas foram acompanhadas até o final da estação de monta, obtendo-se, posteriormente, os dados de parto das mesmas, com exceção de seis animais, dos quais não se obteve os dados relativos à sua realização. O acompanhamento gestacional era realizado com exame ultrassonográfico onde visualizava-se a presença do feto e os batimentos cardíacos do mesmo.

Como auxiliares no controle reprodutivo, utilizou-se prostaglandina F2 $\alpha$  (cloprostenol<sup>6</sup>),

Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG<sup>7</sup>) e progesterona<sup>8</sup>, quando necessário.

As éguas foram mantidas a pasto durante todo o período experimental, com o capim gordura sendo predominante (*Melinis minutiflora*), mas existindo outras espécies forrageiras consorciadas, como os cultivares Tanzânia, Mombaça e Atlas (*Panicum maximum*), o capim Jaraguá (*Hiparrhenia rufa*) e o capim Humidícola (*Brachiaria humidicola*), sendo o fornecimento de água e sal mineral<sup>9</sup> *ad libitum*.

#### 4.3.2. Experimentos III e IV

Para o experimento III foi utilizado um total de 123 ciclos de éguas mestiças, sendo 44 no experimento IIIa, e 79 no experimento IIIb. As éguas possuíam idades variando de 2,5 a 18 anos, e pertenciam a quatro categorias reprodutivas (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”). No experimento IV, foram utilizados 74 ciclos de 59 éguas mestiças, com idades variando de 2,5 a 20 anos, pertencentes às mesmas quatro categorias reprodutivas já mencionadas.

No início da estação de monta, todas as éguas foram submetidas a exame ginecológico, quando avaliava-se a conformação da genitália externa e interna através de palpação transretal, acompanhado por exame ultrassonográfico<sup>10</sup> dos ovários e do útero, além da avaliação do histórico reprodutivo e escore da condição corporal de cada fêmea. A avaliação das éguas paridas iniciava-se a partir do 6º dia pós-parto.

A partir dos resultados obtidos foram realizados tratamentos médicos em éguas que apresentaram acúmulo excessivo de líquido intrauterino. Aos animais acometidos era administrado 10UI de ocitocina<sup>11</sup>,

<sup>7</sup> Vetecor® - Hertape Calier Saúde Animal

<sup>8</sup> Progesterona injetável (IM) - Powervet

<sup>9</sup> Sal mineral - Matsuda

<sup>10</sup> Modelo DP3300, probe de 5mHz (Mindray)

<sup>11</sup> Placentex® (Agener União)

aplicada no dia da inseminação ou cobertura, em um período mínimo de 4 horas após as mesmas. Àquelas éguas que persistiram com o problema por mais de dois ciclos era administrado um protocolo associando antibioticoterapia sistêmica com penicilina<sup>12</sup>, na dose de 3.10<sup>6</sup> UI via intramuscular, por um período de cinco dias consecutivos. Além disso, as éguas eram submetidas à aplicação endovenosa de 10UI de ocitocina<sup>11</sup>, a cada 24 horas, por um período de três dias. Acompanhamento ultrassonográfico era realizado nesses animais até que se constatasse a resolução do problema.

O controle folicular diário e a condição geral de cada égua eram anotados em fichas individuais (Anexo 4), de forma a registrar todos os dados relativos a cada animal durante todo o período experimental.

Para o controle folicular, as éguas eram submetidas à palpação e ultrassonografia transretais a cada 2 a 3 dias, até que se detectasse um folículo de 2,5cm de diâmetro, momento em que o acompanhamento tornava-se diário até a ovulação. Na presença de um folículo com diâmetro igual ou superior a 3,0 cm, iniciavam-se as inseminações artificiais em dias fixos (às segundas, quartas e sextas-feiras) (experimento III), ou as cobrições (experimento IV), até a detecção da ovulação. As rufiações eram realizadas coletivamente, antes das palpações, com as éguas soltas em um curral em contato com um garanhão, que permanecia no mesmo ambiente ou no curral vizinho, preso por um cabresto. Éguas que apresentavam folículos com diâmetro de 2,5 a 3,0 cm, sem exteriorização de cio, eram submetidas à rufiação individualizada.

Nas fêmeas destinadas ao experimento III, quando detectava-se um folículo de diâmetro igual ou superior a 3,5 cm, associado à manifestação de cio e edema intramural visualizado ultrassonograficamente, era

---

<sup>12</sup> ProntoPen® (Valée)

administrada uma dose de 1666 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG<sup>13</sup>) por via endovenosa, como agente indutor da ovulação. As aplicações de hCG eram feitas sempre nos dias das inseminações (segundas, quartas e sextas-feiras). Além da hCG, durante a estação de monta utilizou-se prostaglandina F2 $\alpha$ <sup>14</sup> (Dinoprost Trometamina) como auxiliar no controle reprodutivo, sendo este hormônio utilizado nos experimentos III e IV.

A partir da ovulação, as éguas eram mantidas afastadas do controle folicular diário, em piquetes próximos à sede da fazenda, por no mínimo 11 dias, quando então eram submetidas à avaliação ultrassonográfica para o diagnóstico da gestação (figura 8c). Cada égua positiva era acompanhada em intervalos mensais até os 120 dias de gestação, através de palpação transretal e exame ultrassonográfico (figuras 8d,e,f; 9a,b,c,d,e,f; e 10a,b,c), o que permitiu a determinação dos intervalos médios das perdas embrionárias ou fetais. Éguas pertencentes ao experimento III que reabsorveram os embriões até os 30 dias, após pelo menos um diagnóstico positivo, voltaram ao controle reprodutivo e foram re-inseminadas. Já aquelas que apresentaram perdas em um período superior aos 30 dias de gestação foram servidas por monta natural, passando a compor o número amostral do experimento IV, o qual também era composto por fêmeas que não passaram previamente pelo experimento III.

Durante o período experimental todas as éguas foram mantidas a pasto, onde predominava o capim Tifton 85 (*Cynodon spp*), com fornecimento de água e sal mineral<sup>15</sup> *ad libitum*.

---

<sup>13</sup> Vetecor®(Hertape Calier)

<sup>14</sup> Lutalyse® (Pfizer)

<sup>15</sup> Kromiun® (Tortuga)

#### 4.4. Manejo reprodutivo e nutricional dos reprodutores

##### 4.4.1. Experimento II

Para o experimento IIa foram utilizados quatro jumentos da raça Pêga (*Equus asinus*), representados pelos símbolos J1, J3, J4, J5 com idades de 15, 15, 7 e 9 anos, respectivamente. Para o experimento IIb foram utilizados 5 animais, sendo os mesmos do experimento IIa, acrescido de mais um animal, também da raça Pêga, com 8 anos de idade, representados pelos símbolos J1, J2, J3, J4 e J5.

Antes do início da estação de monta, os reprodutores foram submetidos a um exame andrológico, quando se realizou a inspeção e palpação da genitália externa, observação do comportamento sexual de cada macho, avaliação física e morfológica do sêmen (cor, aspecto, motilidade, vigor, concentração e morfologia espermáticas), e avaliação de sua resistência frente ao resfriamento à 5°C, por 12 e 24 horas.

As coletas de sêmen eram registradas em fichas próprias e individuais (Anexo 3), de modo a obterem-se todos os dados relativos a cada coleta, incluindo os cálculos do número de doses produzidas e a sua utilização em cada tratamento.

Os jumentos eram mantidos em baias individuais de alvenaria, medindo 16 m<sup>2</sup>, com piso de cimento e cama de palha seca, sendo soltos de forma alternada em um piquete durante o dia.

Eram fornecidos a cada macho, 20 kg de capim elefante picado (*Pennisetum purpureum*), distribuídos 2 vezes ao dia, 4 kg de ração farelada, produzida na própria fazenda, sal mineral<sup>9</sup> e água *ad libitum*.

##### 4.4.2 Experimento III

Foram utilizados cinco jumentos da raça Pêga, representados pelas siglas JIII1, JIII2, JIII3, JIII4 e JIII5, com idades de 5, 6, 17, 7 e 6 anos, respectivamente. Os mesmos reprodutores foram usados nos experimentos IIIa e IIIb.

Antes do início da estação reprodutiva os animais foram submetidos a exame andrológico compreendendo a avaliação da genitália externa, libido e características físicas e morfológicas do sêmen (cor, aspecto, volume, motilidade, vigor, concentração e morfologia espermáticas).

Os jumentos eram mantidos em piquetes individuais, onde predominava a gramínea Tifton (*Cynodon app.*), com fornecimento diário de 1 kg de suplemento proteico-mineral<sup>16</sup>, sal mineral<sup>17</sup> e água *ad libitum*.

##### 4.4.3. Experimento IV

Foram utilizados sete jumentos da raça Pêga, representados pelas siglas JIV1, JIV2, JIV3, JIV4, JIV5, JIV6 e JIV7, com idades de 5, 17, 7, 6, 4, 3 e 7 anos, respectivamente; e três garanhões, sendo um da raça Mangalarga Paulista e dois sem raça definida, representados pelas siglas G1, G2 e G3, com idades de 8, 7 e 18 anos, respectivamente.

Todos os reprodutores eram mantidos em piquetes individuais, onde predominava a gramínea Tifton (*Cynodon spp.*), com fornecimento de 1 kg de suplemento proteico-mineral<sup>16</sup>, sal mineral<sup>17</sup> e água *ad libitum*.

---

<sup>16</sup> Expander Minerais (Itambé®)

<sup>17</sup> Master Equinos (Itambé®)

#### 4.5. Composição dos diluidores utilizados

##### 4.5.1. Experimento II

O sêmen utilizado nos experimentos IIa e IIb foi diluído utilizando-se os diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) (Kenney *et al.*, 1983), para o tratamento 1, e o de glicina-gema de ovo (GGO), para o tratamento 2. A composição dos dois diluidores está apresentada na tabela 17.

##### 4.5.2. Experimento III

As éguas do experimento III foram inseminadas com sêmen diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) (Kenney *et al.*, 1983), no tratamento 1 do experimento IIIa, e em todo o experimento IIIb; e de lactose-gema de ovo (LGO), no tratamento 2 do experimento IIIa. A composição dos diluidores mencionados está apresentada na tabela 18.

Tabela 17. Composição dos diluidores utilizados nos Experimentos IIa e IIb

Ingredientes dos Diluidores	Leite em pó desnatado-glicose*	Glicina – gema de ovo (solução mãe)**
Leite em pó desnatado***		
(g)	24,0	.....
Glicose (g)	49,0	10,0
Citrato de sódio (g)	.....	3,3
Glicina (g)	.....	3,3
Bicarbonato de sódio (g)	1,5	.....
Penicilina G. Potássica (UI)	1.000.000	1.000.000
Estreptomicina (g)	1,0	1,0
Água (q.s.p, ml)****	1000,0	800,0

\*Diluidor de Leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983).

\*\*Diluidor de Glicina-gema de ovo (Foote, 2002). Os ingredientes listados constituem a solução mãe do diluidor glicina-gema de ovo, à qual são acrescentados 200 ml de gema de ovo antes de seu uso.

\*\*\*Leite em Pó Molico®.

\*\*\*\*Água destilada, deionizada e autoclavada.

Tabela 18. Composição dos diluidores utilizados nos Experimentos IIIa e IIIb

Ingredientes dos diluidores	Leite em pó desnatado-glicose*	Lactose - gema de ovo modificado**
Leite em pó desnatado (g)	24	.....
Glicose (g)	49	.....
Lactose (g)	.....	110
Penicilina G. Potássica (UI)	1.000.000	1.000.000
Estreptomicina (g)	1	1
Água (q.s.p, ml)***	1000	1000

\*Diluidor de Leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983)

\*\*Diluidor de Lactose-gema de ovo modificado (Nagase e Graham, 1964). Os ingredientes listados fazem parte da solução mãe do diluidor em questão, da qual retira-se 800 ml acrescido a seguir de 200 ml gema de ovo, antes de seu uso.

\*\*\*Água destilada, deionizada e autoclavada.

## 4.6. Preparo dos diluidores utilizados

### 4.6.1. Experimento II

O diluidor à base de leite em pó desnatado-glicose (Kenney *et al.*, 1983) era preparado adicionando-se todos os ingredientes em um recipiente de vidro estéril, vedado com gaze e papel plástico, com uma pequena abertura por onde passava o termômetro. A solução era aquecida em banho-maria até atingir a temperatura de 92-94°C, sendo aí mantida por 10 minutos. A solução era então colocada em temperatura ambiente até que atingisse a temperatura de aproximadamente 37°C, momento em que se adicionavam os antibióticos.

Após o preparo, o diluidor era estocado em recipientes estéreis, com capacidade de 60 ml aproximadamente, e congelado no freezer (-20°C), onde era mantido até o momento de descongelamento para uso. No experimento IIa, o diluidor era descongelado durante o período da manhã, para ser utilizado após a coleta, que começava a partir das 13 horas do mesmo dia. No experimento IIb, o descongelamento do diluidor iniciava-se na noite anterior à coleta, que ocorria na manhã do dia seguinte.

A solução mãe do diluidor glicina – gema de ovo (Foote, 2002) era preparada até dois dias antes de seu uso e mantida em geladeira. O preparo consistia na mistura de todos os ingredientes até a completa dissolução dos mesmos em água. Pouco antes da coleta era adicionada a 800 ml dessa solução, 200 ml de gema de ovo (figura 6e), previamente separada da clara por meio de um papel filtro<sup>18</sup> (figuras 6b, 6d), de forma a retirar qualquer resíduo de clara de ovo (figura 6c). Antes de sua utilização, os ovos eram lavados com água e sabão, e desinfetados com álcool (figura 6a).

A quantidade de diluidor a ser utilizada era calculada antes das coletas, considerando-se

o número de éguas a serem inseminadas, o tratamento e o reprodutor utilizado.

### 4.6.2. Experimento III

O diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) (Kenney *et al.*, 1983), comum aos dois experimentos, era preparado e acondicionado seguindo-se os mesmos procedimentos descritos no item 4.6.1. As coletas iniciavam-se às 14 horas, sendo o diluidor colocado para descongelar, aproximadamente, duas horas antes do uso.

Para o preparo do diluidor lactose-gema de ovo modificado (LGO) (Nagase e Graham, 1964), também seguia-se basicamente o mesmo protocolo descrito para o preparo do diluidor glicina-gema de ovo (GGO) (Foote, 2002). A solução mãe era previamente preparada e acondicionada em geladeira por até dois dias antes de seu uso. No dia da coleta, aproximadamente duas horas antes do início da mesma, misturava-se 200 ml de gema de ovo, em 800 ml da solução mãe, como descrito no item 4.6.1 (figuras 6b, 6c, 6d, 6e).

Após o preparo completo, os diluidores eram colocados em banho Maria à 37°C, de forma a manterem a mesma temperatura do sêmen, no momento da diluição (figura 6f).

## 4.7. Coleta, avaliação e diluição do sêmen

### 4.7.1. Experimento II

As coletas de sêmen foram realizadas utilizando-se uma fêmea no cio, devidamente imobilizada em tronco de contenção (figura 4e), localizado em um curral coberto por telha de cerâmica (figura 4c). O tronco era utilizado na fazenda para a realização de montas naturais envolvendo jumentos e éguas, possuindo, portanto, adaptações, como uma rampa de alvenaria, de modo a permitir o posicionamento do jumento em uma altura superior à da égua

<sup>18</sup> Qualy®

(figura 4d), o que facilitava a monta e a coleta do sêmen.

Para a coleta do sêmen, utilizou-se uma vagina artificial modelo Hannover (figura 4f). No interior da vagina utilizou-se uma luva de palpação transretal cortada em sua extremidade (mão), de forma a evitar qualquer contato do sêmen com a mucosa de látex. Na extremidade posterior da vagina era fixada uma mamadeira com tampa larga vazada. No interior da mesma, colocava-se um saquinho plástico estéril (mamadeira descartável de bebê<sup>19</sup>) graduado, com capacidade de 250 ml. Na tampa da mamadeira acoplava-se um filtro descartável de colheita de sêmen suíno, utilizado para reter a fração gelatinosa do sêmen. Para a coleta, a vagina artificial era preenchida com água à temperatura de 50°C de forma que seu interior atingisse a temperatura de 42°C. Em seguida, era feita lubrificação do interior da vagina com gel a base de água<sup>20</sup>, utilizando-se para isso um bastão de vidro com 5,0 cm de diâmetro para, dessa maneira, espalhar o gel de forma homogênea e retirar o excesso de água do interior da vagina artificial.

Após a coleta, no laboratório, a mamadeira plástica contendo o sêmen era separada e colocada imediatamente em banho-maria a 37°C, para que se fizesse a avaliação das características físicas do sêmen (coloração, aspecto e volume sem a fração gel).

Para o cálculo da concentração espermática, um volume de 50µl de sêmen era retirado e diluído em 5 ml de solução formol salina tamponada (1:100). Essa solução era homogeneizada e a câmara de Neubauer preenchida. Antes de iniciar a contagem dos espermatozoides, a câmara permanecia por 5 minutos em repouso. Neste intervalo de tempo realizava-se avaliação da motilidade total (%) e do vigor (0-5) ao microscópio óptico, com aumento de 100 a 400 vezes. Para isso uma gota de sêmen fresco era

depositada em lâmina previamente aquecida a 37°C em mesa aquecedora, e coberta por uma lamínula na mesma condição. O cálculo do número de células espermáticas era feito a partir da contagem de espermatozoides, nos dois lados da câmara de Neubauer, em microscopia óptica com aumento de 400 vezes. O procedimento era refeito no caso de diferença superior a 10% nas duas contagens. O valor médio das duas contagens era multiplicado por  $5 \times 10^6$ , para obter-se o número de espermatozoides/ml do ejaculado.

Todos os dados eram anotados em fichas próprias, nas quais eram feitos os cálculos para se determinar o volume da dose inseminante, com concentração fixa de  $400 \times 10^6$  espermatozoides móveis (Anexo 3). Com pipeta de vidro graduada era realizada a diluição com o volume de sêmen calculado para as doses. Após a diluição eram avaliados a motilidade total (%) e o vigor espermático (0-5). O tempo gasto até o momento da diluição também era registrado nas fichas de cada animal.

Amostras de sêmen a fresco eram retiradas e colocadas em tubos ependorffs contendo solução de formol salina tamponada para posterior avaliação da morfologia espermática.

As doses preparadas para o experimento IIa eram utilizadas imediatamente para as inseminações. No experimento IIb, o sêmen era resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial (Palhares, 1997), para ser utilizado após 12 horas de armazenamento.

#### 4.7.2. Experimento III

As coletas eram realizadas utilizando-se manequim artificial proposto por Valle (1997), medindo 1,4 m de altura, em área isolada, protegido por cerca de madeira, ao ar livre (figura 7b). Para estimular os reprodutores, uma jumenta era posicionada próxima ao manequim, e no momento do salto, com auxílio de cabresto, o jumento era

<sup>19</sup> Playtex, Parents Choice – Bottle Liners

<sup>20</sup> KY gel lubrificante – Johnson & Johnson

desviado para a posição anterior do mesmo. Todos os animais montaram o manequim já no primeiro dia de coleta.

Em dias de chuva, as coletas eram realizadas utilizando-se uma fêmea imobilizada em tronco de contenção, em local coberto e fechado (figura 7a).

Para a coleta do sêmen foi utilizada vagina artificial modelo aberta, adaptada de Tischner *et al.* (1975), constituída de um cilindro de borracha, com 28 cm de comprimento e 14 cm de diâmetro (figura 5d). O menor tamanho deste tipo de vagina em relação aos modelos utilizados para coleta total do sêmen, permite a exposição da glândula do pênis, facilitando a visualização e contagem dos jatos do ejaculado (coleta fracionada). No interior da vagina era introduzida uma mucosa de látex<sup>21</sup> com 77 cm de comprimento e 17 cm de largura, e cobrindo-a, um saco plástico descartável<sup>22</sup> com medidas de 30x50x0,005 cm, cortado na extremidade fechada de modo a impedir o contato do sêmen com a mucosa de látex. O saco plástico era preso à vagina por meio de tiras de borracha. Após a montagem da vagina artificial preenchia-se seu interior com água aquecida a 50°C, após o que lubrificava-se a mesma com vaselina<sup>23</sup>.

Para a recepção do sêmen, utilizou-se um copo plástico<sup>24</sup> com alça, com capacidade de 2l, revestido com papel pardo (figura 5e), de forma a impedir que o sêmen fosse exposto diretamente à luminosidade. Em seu interior era introduzido um saco plástico descartável<sup>22</sup>, 25x35x0,005 cm. A extremidade aberta do copo coletor era tampada com papel toalha, fixado com uma tira de borracha, de forma a evitar a contaminação do ambiente até o momento da coleta.

As coletas eram realizadas em dias fixos, aos domingos, terças e quintas-feiras, sempre após as 14 horas. Eram necessárias duas pessoas para a realização da coleta fracionada, de modo que uma segurava e conduzia a vagina artificial e outra recepcionava o sêmen no copo coletor (figuras 7a e 7b). No momento em que ocorria a dilatação da glândula do pênis do reprodutor, a pessoa responsável pelo copo coletor aproximava-se e posicionava o copo à frente da glândula, sem encostar na mesma. A fração pré-espermática era descartada, sendo os três primeiros jatos do ejaculado coletados. A identificação de cada jato era feita acompanhando-se as pulsações uretrais e também visualmente. Após o terceiro jato, todo o restante do ejaculado era desprezado, caindo diretamente no chão.

O copo coletor era então coberto com papel toalha até sua chegada ao laboratório, onde o saco plástico contendo o sêmen era imediatamente colocado em banho-maria a 37°C. A hora da coleta era anotada no momento em que se chegava ao laboratório. Enquanto uma pessoa coletava uma amostra de sêmen para avaliação física (motilidade total e vigor), outra mensurava o volume de sêmen coletado utilizando-se uma proveta graduada de vidro. A seguir, 20µl de sêmen eram retirados com uma pipeta de volume fixo, e diluídos em 8 ml de solução formol salina tamponada (1:400), para o cálculo da concentração espermática (figura 5a). Amostras para morfologia eram retiradas, acondicionando-se o sêmen com a solução formol salina tamponada em tubos ependorffs, armazenados em caixas de papel dentro da geladeira.

No experimento IIIa, o volume total de sêmen era dividido em duas mamadeiras estéreis, sendo feita rapidamente uma pré-diluição na proporção de 1:1, ou seja, uma parte de sêmen para uma parte de diluidor lactose-gema de ovo ou de leite em pó desnatado-glicose, de acordo com o tratamento considerado.

---

<sup>21</sup> Icelvet®

<sup>22</sup> Martplas®

<sup>23</sup> Sulfal Química Ltda

<sup>24</sup> Plasutil®

O intervalo da coleta do sêmen à primeira diluição era anotado na ficha de coleta. Nova avaliação física do sêmen era realizada após a diluição, anotando-se este dado na ficha de coleta (Anexo 5).

Para o cálculo da concentração espermática, a câmara de Neubauer era preenchida com a solução preparada de sêmen e formol salina. O preenchimento era feito por meio de um capilar de vidro. A câmara permanecia em repouso por cinco minutos, sobre o microscópio óptico. Durante este intervalo realizava-se avaliação física do sêmen, depositando uma gota do mesmo sobre uma lâmina mantida aquecida sobre placa aquecedora a 37°C (figura 5f), coberta com uma lamínula na mesma condição. Para a avaliação utilizou-se microscópio óptico com aumento de 100 e 400X, expressando a motilidade em percentual de células móveis por campo (0 a 100%). O vigor espermático era avaliado utilizando-se uma escala de 0 a 5, recebendo 0 as células imóveis e 5 as que apresentavam grande rapidez de movimentação.

Após os cinco minutos de repouso, a concentração espermática era calculada pela contagem do número de espermatozoides nos dois lados da câmara de Neubauer, por microscopia óptica com aumento de 400X. No caso de diferença superior a 10% nas duas contagens, uma nova câmara de Neubauer era montada, e o procedimento refeito.

O valor médio das duas contagens era multiplicado por  $20 \times 10^6$ , obtendo-se o número de espermatozoides/ml do ejaculado.

#### **4.8. Preparo das doses inseminantes e resfriamento do sêmen**

##### **4.8.1. Experimento II**

Para o experimento IIa, após a diluição final, as doses inseminantes eram envasadas em tubos de vidro com capacidade para 22 ml.

Os tubos eram preenchidos por completo, eliminando-se o ar residual e selando-os com filme PVC<sup>25</sup>. Os tubos eram dispostos no contêiner (Palhares, 1997), que logo após recebia o centro refrigerador (figuras 7c e 7d), sendo imediatamente fechado e permanecendo assim até o momento da inseminação. O horário era anotado e o contêiner identificado com o nome do jumento, de forma a evitar qualquer erro.

O contêiner comporta seis doses inseminantes, dispostas ao redor de um orifício central, com 8 cm de diâmetro onde se encaixa o bloco refrigerador. A comunicação do centro refrigerador com cada dose se dá através de 14 orifícios de 0,7 cm de diâmetro dispostos verticalmente ao longo da extensão do tubo de vidro (figura 7c).

O centro refrigerador do contêiner constitui-se de um cilindro de liga de cobre/latão, medindo 15 cm de comprimento, 7,5 cm de diâmetro e 0,2 mm de espessura, preenchido com 600 ml de Cryogel<sup>26</sup> e mantido em freezer até seu completo congelamento.

##### **4.8.2. Experimento III**

A partir da concentração espermática e dos cálculos realizados, era possível determinar o volume de sêmen e de diluidor necessários para se obter uma dose inseminante de  $400 \times 10^6$  espermatozoides móveis e 22 ml, mensurados no momento da diluição, correspondentes a uma dose inseminante. Para o experimento IIIb, as doses de  $800 \times 10^6$  eram obtidas multiplicando-se o volume da dose de  $400 \times 10^6$  por 2, de forma a se obter o volume de sêmen necessário para aquele tratamento. As doses inseminantes eram acondicionadas em tubos de vidro esterilizados com capacidade para 22 ml. Tanto o sêmen pré-diluído quanto o volume restante de diluidor eram transferidos ao

<sup>25</sup> Boreda; filme de PVC transparente – Alumipack Indústria de Embalagens Ltda.

<sup>26</sup> 3M do Brasil Ltda



tubo de vidro utilizando-se pipeta de vidro graduada, tomando-se sempre o cuidado de não misturar pipetas de diluidores diferentes e/ou de sêmen de jumentos diferentes. Os tubos permaneciam no banho-maria a 37°C até seu completo preenchimento, sendo depois selados com filme PVC<sup>25</sup> e identificados, com caneta esferográfica preta, mencionando-se a dose e o nome do jumento correspondente. Após o fechamento dos tubos homogeneizava-se a dose vertendo-a lentamente de 2 a 3 vezes.

O número de doses inseminantes era calculado após as palpações transretais das éguas pela manhã. Sempre era contabilizada uma dose inseminante adicional de cada experimento e tratamento, para posterior avaliação das mesmas nos tempos de 24, 48 e 72 horas após a coleta do sêmen.

Com as doses inseminantes prontas, mantidas em banho-maria a 37°C, o contêiner (Palhares, 1997) era preparado, inserindo-se o centro refrigerador e em seguida as doses ao redor do mesmo, quando então era fechado (figura 7d). O horário do procedimento era registrado e o contêiner devidamente identificado com o nome do reprodutor e a data da coleta. Os contêineres utilizados foram exatamente os mesmos do experimento II.

#### **4.9. Avaliação do sêmen e inseminação artificial**

##### **4.9.1. Experimento II**

Antes das inseminações, as éguas eram separadas por lotes de acordo com o jumento a ser utilizado. A entrada de cada animal no tronco era controlada por uma lista, considerando-se o tratamento ao qual pertenciam. Primeiramente inseminava-se um grupo de éguas de um tratamento, e depois o grupo pertencente ao outro tratamento. Esse procedimento evitava que ocorressem trocas indevidas de fêmeas entre jumentos e tratamentos.

Realizava-se então a higienização da região perineal de cada égua, com água e sabão de côco, seguida da secagem com papel toalha. As luvas utilizadas nas inseminações eram armazenadas em uma caixa com algumas pastilhas de formol. A mão enluvada era lubrificada com solução de Ringer com lactato de sódio, protegendo-se a ponta da pipeta de inseminação no momento da introdução da mão na cavidade vaginal. A pipeta era direcionada, através do orifício externo cervical, até alcançar o corpo do útero. Em seguida, acoplava-se na extremidade posterior da pipeta, uma seringa de 20 ml, contendo a dose inseminante, momento

em que se depositava o conteúdo no local desejado. A seringa vazia era então preenchida com 5 ml de ar, e novamente encaixada na pipeta, de forma a expulsar o sêmen residual da mesma. Logo após, retirava-se a mão cuidadosamente, protegendo-se a ponta da pipeta, após o que realizava-se uma massagem do clitóris. A pipeta era imediatamente levada ao laboratório, para analisar uma gota residual de seu interior. O horário da inseminação de cada égua era anotado em sua ficha individual de controle (Anexo 1). Amostras para morfologia do sêmen resfriado eram retiradas e acondicionadas em ependorffs contendo solução de formol salina tamponada.

##### **4.9.2. Experimento III**

Antes das inseminações realizava-se avaliação das doses inseminantes de cada jumento e tratamento. A amostra era coletada abrindo-se o contêiner e inserindo-se no tubo de vidro uma sonda uretral n°14<sup>27</sup>, sem retirar o mesmo de dentro do contêiner. O contêiner era novamente fechado deixando apenas uma abertura para a passagem da sonda. Acoplava-se

---

<sup>27</sup> Embramed®

então uma seringa de 6 ml à sonda, de forma a homogeneizar o sêmen, enchendo e esvaziando-se a seringa por 10 vezes, com movimentos delicados e suaves, sem permitir o contato da mão com a parede da seringa (figura 7e). As doses destinadas à avaliação não eram usadas para inseminação artificial.

Uma amostra de 2 ml era retirada e transferida a um tubo ependorff, o qual era identificado com o nome do jumento e tratamento, e colocado em banho-maria a 37°C. Em seguida, procedia-se à avaliação física do sêmen, considerando-se a motilidade total (0 a 100%) e o vigor espermático (0 – 5). Após a avaliação, amostras para morfologia espermática do sêmen resfriado eram coletadas e acondicionadas em tubos ependorffs com solução salina tamponada, devidamente identificados com o nome do jumento, tratamento e data. Tudo era anotado na ficha de coleta do dia anterior de cada reprodutor (Anexo 5).

Antes das inseminações, a região perineal de cada égua era higienizada, utilizando-se para isso água e sabão de côco. Logo após era seca com papel toalha, descartado após cada uso. O inseminador, com a mão enluvada, conduzia a pipeta cuidadosamente pela cavidade vaginal, protegendo sua ponta com o dedo, e guiando-a através do orifício cervical até o corpo do útero. Neste momento, a dose inseminante, contida em uma seringa estéril de 20 ml, era depositada no local desejado. A seringa era então desacoplada da pipeta e preenchida com 5 ml de ar de forma a empurrar o ar residual da mesma (figuras 8a e 8b). Logo após, a mão era cuidadosamente retirada da cavidade vaginal, protegendo a ponta da pipeta com o dedo. O horário da inseminação era anotado na ficha de controle de cada égua (Anexo 4).

#### 4.9.3. Experimento IV - Preparo das éguas e dos reprodutores para a monta natural

As éguas submetidas à monta natural com os reprodutores asininos permaneciam em um tronco, localizado em um curral coberto, protegido da chuva ou sol. Os acasalamentos eram determinados previamente e anotados em fichas próprias. O jumento era então conduzido ao curral por um funcionário, utilizando-se um cabresto. Após a cobertura o jumento era conduzido novamente até o piquete, bem como a égua utilizada. O mesmo procedimento era realizado para as éguas submetidas à monta natural com o garanhão G2 e G3.

As fêmeas destinadas ao garanhão G1 eram encaminhadas por meio de cabresto até o piquete do mesmo, já que este reprodutor não efetuava a monta no ambiente do curral, com as fêmeas imobilizadas no tronco.

Todas as éguas eram novamente cobertas à intervalos de 48 horas, até que se detectasse a ovulação ou até que, durante a rufiação, não aceitassem mais a monta.

#### 4.10. Análises estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Statistical Analysis System, versão 5 - Microsoft® (SAS, 1999), sendo adotado o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ) e utilizando a rotina General Linear Models (GLM).

No experimento I, após cálculo das médias dos quadrados mínimos foi realizada análise de regressão, utilizando a rotina Linear Regression (REG).

Nos Experimentos II, III, IV e V, para as variáveis quantitativas (número de ciclos, número de ovulações/mês, duração da gestação, tempo de gestação ao último controle gestacional, idade das éguas), aplicou-se a análise de variância sendo que, para a comparação de duas médias, utilizou-se o Teste t de Student e, para a comparação

de mais de duas médias, o Teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

Os dados proporcionais (taxa de concepção/ciclo, taxa de concepção total, taxa de perda, taxa de perda ajustada, taxa de parto, taxa de parto ajustada, taxa de concepção/ciclo/mês, sexo dos produtos) foram submetidos ao teste de Qui-Quadrado para detecção de diferenças entre os tratamentos (Snedecor e Cochran, 1980). No experimento III, para a taxa de perdas gestacionais foram apresentadas apenas as médias, em função do baixo número de observações.

Os dados dos experimentos II, III e IV foram agrupados, realizando-se uma metanálise, com o objetivo de se avaliar as taxas de concepção e de perdas gestacionais das éguas cobertas ou inseminadas com o sêmen de jumentos, funcionando o grupo de éguas submetidas ao cruzamento intraespécie como um grupo controle. A metanálise, (do grego “depois de/além da análise”), utiliza técnicas estatísticas para combinar em uma medida resumo os resultados de estudos independentes voltados a uma mesma questão.



Figura 4. Rufiação e coleta (Experimento II): a) Rufião piquira entre dois currais; b) Égua em cio permitindo a monta; c) Tronco de contenção utilizado para monta natural, coleta de sêmen, palpação retal e inseminação artificial das éguas; d) Jumento posicionado na rampa do tronco de contenção; e) Jumento posicionado para a realização da monta natural na égua, devidamente posicionada; f) Coleta do sêmen, no tronco de contenção, utilizando vagina artificial equina modelo Hannover (Rossi, 2008).





Figura 5. Material pré-coleta (Experimento III): a) tubos com solução formol salina, pipeta graduada e câmara de Neubauer para cálculo da concentração espermática; b) recipientes estéreis de armazenagem do diluidor LPDG; c) erlenmeyer contendo o diluidor pronto para ser aquecido à 37°C em banho-maria; d) vagina artificial aberta; e) copo coletor; f) placa aquecedora, microscópio óptico com platina aquecida à 37°C, prontos para receber o sêmen para avaliação física.



Figura 6. Preparo do diluidor lactose-gema de ovo (LGO) modificado (Experimento III): a) material de preparo: ovos lavados e esterilizados com álcool, filtros de papel em bancada previamente limpa; b) separação da gema; c) gema livre após separação da clara pelo papel filtro; d) ruptura da película da gema e deposição em béquer estéril; e) mistura da gema à solução de lactose a 11%; f) solução pronta, em banho-maria a 37°C.



Figura 7. Coleta e resfriamento do sêmen (Experimento III): a) coleta fracionada do sêmen em curral coberto, utilizando-se jumenta imobilizada em tronco de contenção; b) coleta do sêmen em manequim; c) contêiner especial e bloco refrigerador; d) inserção do tubo de vidro contendo a dose inseminante no contêiner especial; e) homogeneização do sêmen para posterior avaliação.



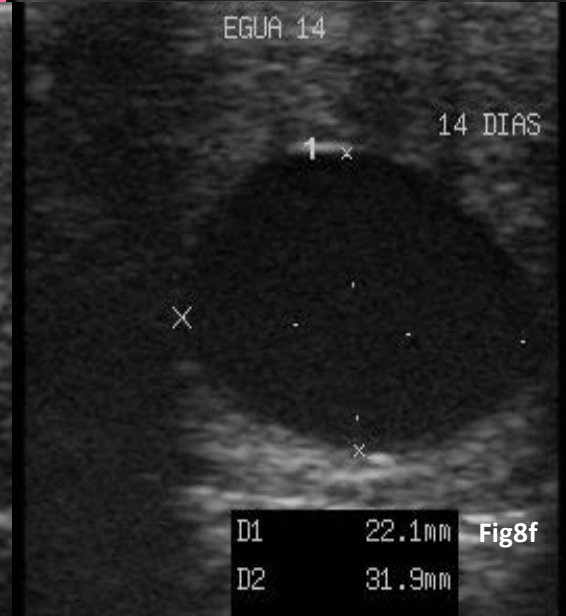
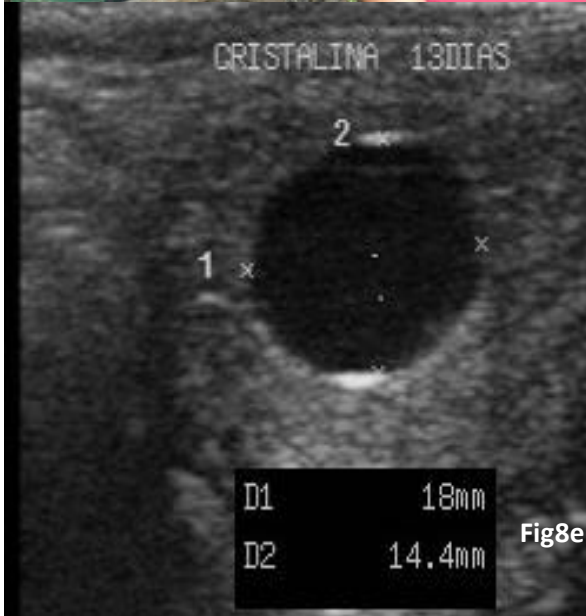
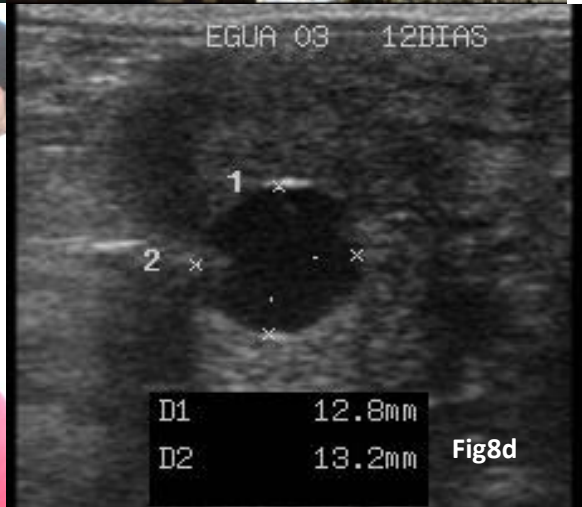


Figura 8. (Experimento III) a) e b) inseminação artificial com sêmen resfriado; c) diagnóstico de gestação em tronco de contenção; d) vesícula embrionária aos 12 dias; e) vesícula embrionária aos 13 dias; f) vesícula embrionária aos 14 dias.



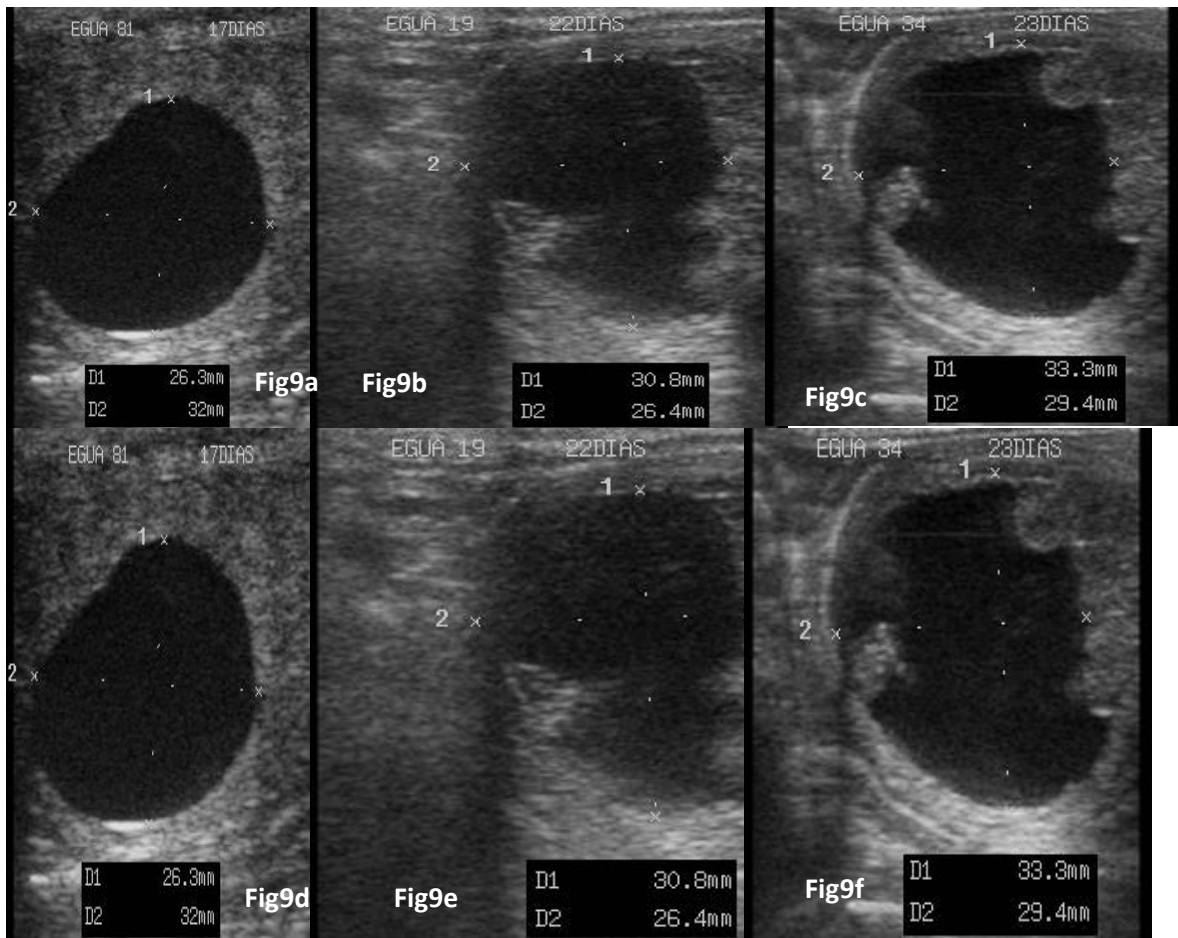


Figura 9. Vesículas embrionárias (Experimento I) a) 17 dias; b) 22 dias; c) 23 dias; d)27 dias; e)28 dias; d)32 dias.

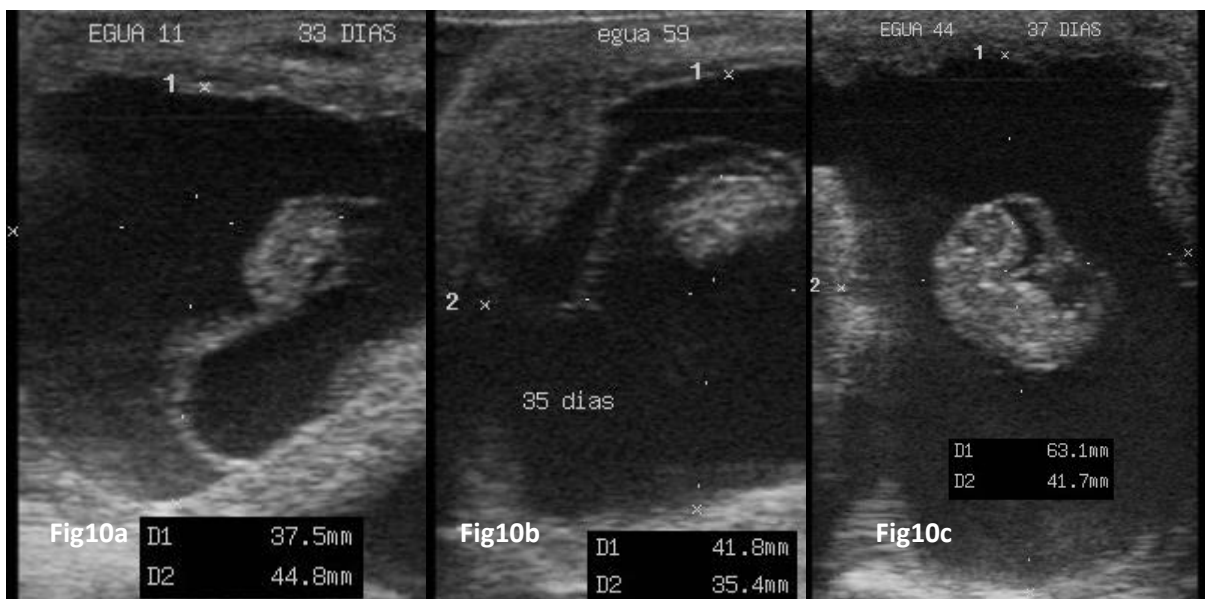


Figura 10. Vesículas embrionárias a) 33 dias; b) 35 dias; c) 37 dias.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Experimento I: Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespecíes

Cento e sessenta e sete (167) vesículas embrionárias de éguas gestando embriões muares foram mensuradas quando da avaliação ultrassonográfica, compreendendo observações no período de 10 à 37 dias de gestação (figuras 11 a a 11 l; figuras 12 a a 12 l; figuras 13 a e 13 b), estando os valores médios de altura e largura das vesículas

embrionárias (mm), por idade gestacional, apresentados na tabela 19.

Tal acompanhamento permitiu montar-se uma curva de desenvolvimento do embrião muar até os 37 dias de gestação (gráfico 1), condição estudada apenas por Boeta e Zarco (2005). Com essas informações, será possível comparar o desenvolvimento de embriões muares com os de equinos e asininos, já descritos anteriormente pela literatura, visando caracterizar possíveis particularidades do desenvolvimento embrionário de cada espécie.

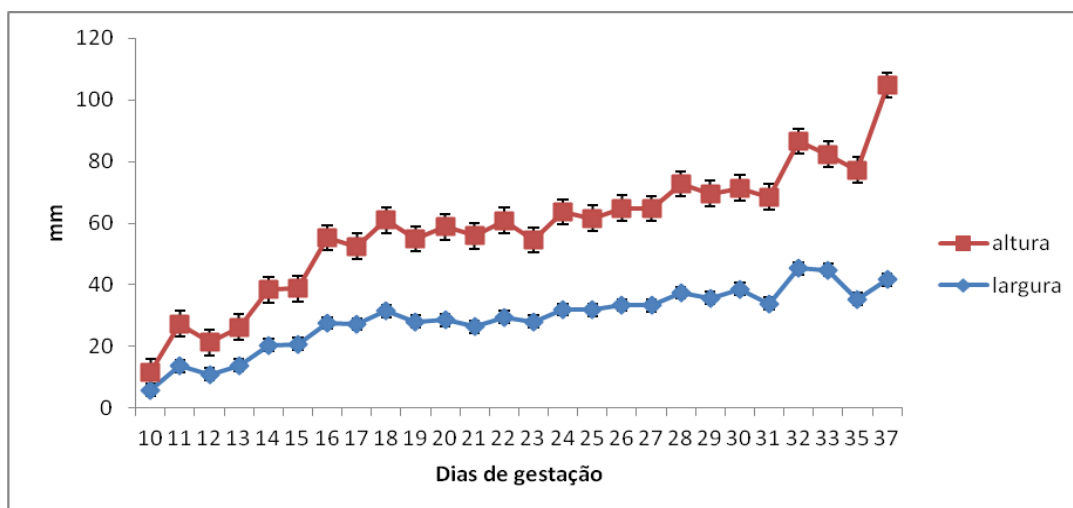


Gráfico 1. Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespecíes (jumento x égua).

A detecção precoce de vesículas embrionárias tornou-se possível a partir da década de 80, com o auxílio da ultrassonografia (Palmer e Driancourt, 1980). Com o uso dessa ferramenta, na espécie equina, a vesícula embrionária pode ser detectada a partir do nono dia pós-ovulação (Ginther, 1995). Neste período, observa-se uma estrutura anecoica, com bordas ventral e dorsal bem definidas, embora o embrião ainda não seja visível (Burns e Layton, 1986). A eficácia da detecção é de 99% quando de avaliações a partir dos 14 ou 15 dias, podendo a vesícula de forma esférica medir em torno de 17 à 22 mm (Neely, 1983; Squires *et al.*, 1988).

Manualmente, é possível detectar-se uma assimetria dos cornos a partir dos 19 dias de gestação, quando a vesícula mede de 25 a 35 mm (Neely, 1983). Já a partir do dia 18 pós-ovulação, a vesícula embrionária adquire uma forma ovoide a irregular, que é normal, não sendo indicativo de perda embrionária. A aparência pode ser confundida com uma coleção intraluminal de fluido uterino, principalmente porque ainda não é possível a visualização do embrião nessa fase (Pycock, 2007).

A partir dos dias 20 a 22, é observado o aparecimento do embrião dentro da vesícula embrionária, localizando-se na porção ventral da mesma, com formato esférico e

um diâmetro de aproximadamente 2,6 cm (Ginther, 1985; Neely, 1983). Até o dia 24, o crescimento da vesícula atinge seu *plateau*, quando as várias camadas das futuras membranas fetais são formadas, embora o saco vitelino ainda mantenha o suporte nutricional (Neely, 1983; Squires *et al.*, 1988). No dia 25 de gestação, a vesícula torna-se esférica, medindo de 30 a 60 mm, mantendo o corno gravídico uma tubularidade e tónus mais pronunciados que o corno não gravídico (Neely, 1983).

Neste período, é possível visualizar a pulsação do coração do embrião, que apresenta frequência de 150 a 190 batimentos por minuto, que aumentam no terceiro mês de gestação e diminuem gradualmente até o sexto mês, quando chega a 130 batimentos por minuto (Troedsson e Sage, 2001), além da visualização da passagem do sangue por seu sistema circulatório (Ginther, 1995 e Neely, 1983).

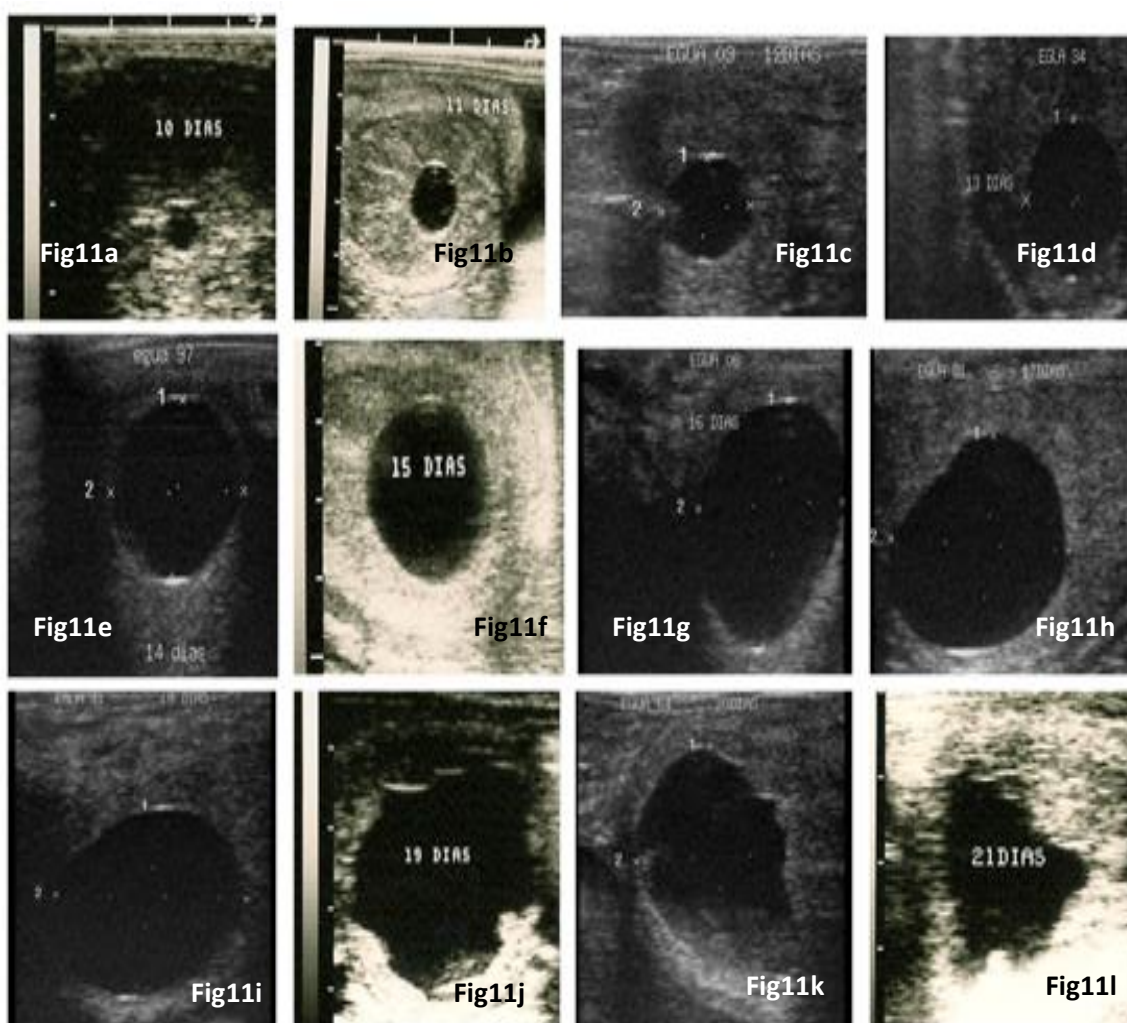


Figura 11. Vesículas embrionárias (Experimento I). a)10 dias; b)11 dias; c)12 dias; d)13 dias; e)14 dias; f)15 dias; g)16 dias; h)17 dias; i)18 dias; j)19 dias; k)20 dias; l)21 dias.

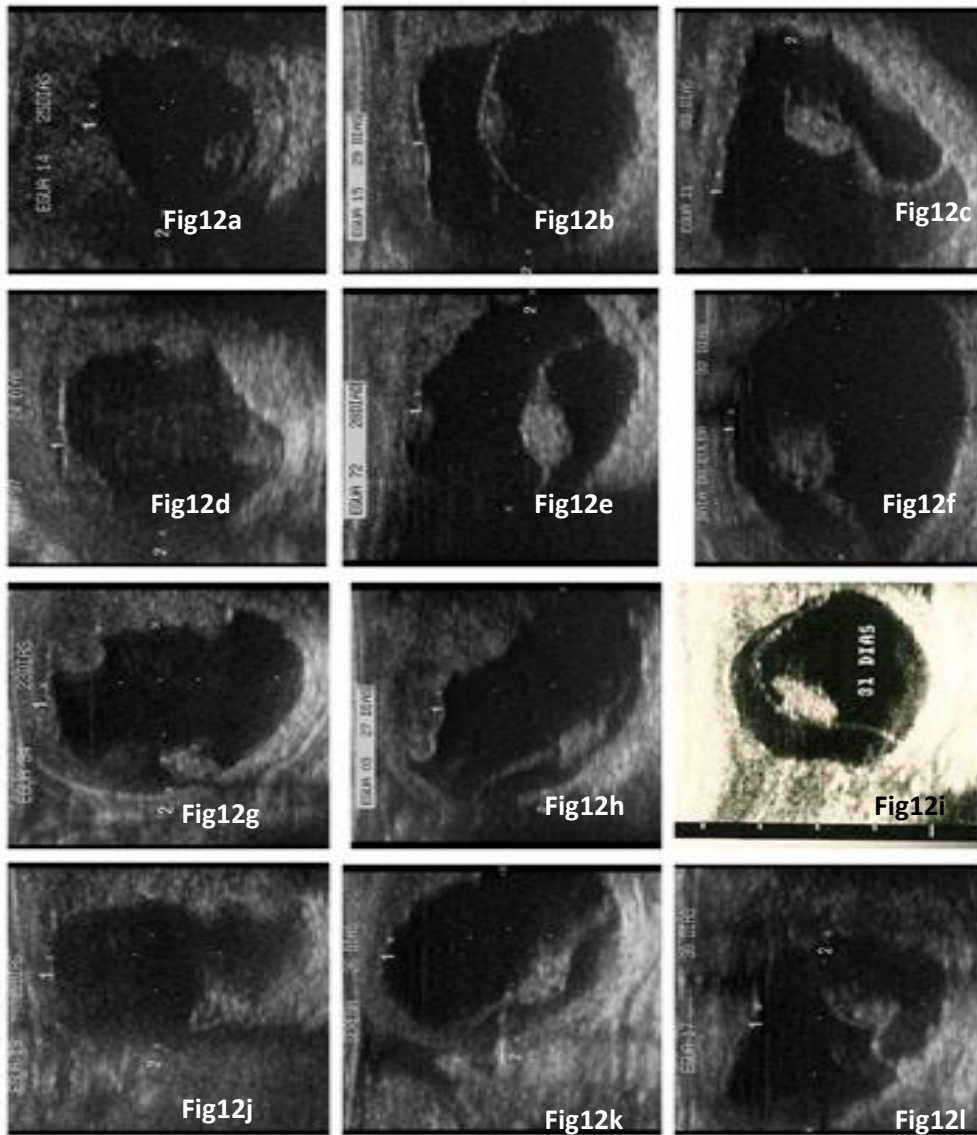


Figura 12. Vesículas embrionárias (Experimento I). a)22 dias; b)23 dias; c)24 dias; d)25 dias; e)26 dias, f)27 dias; g)28 dias; h)29 dias; i)30 dias; j)31 dias; k)32 dias; l)33 dias

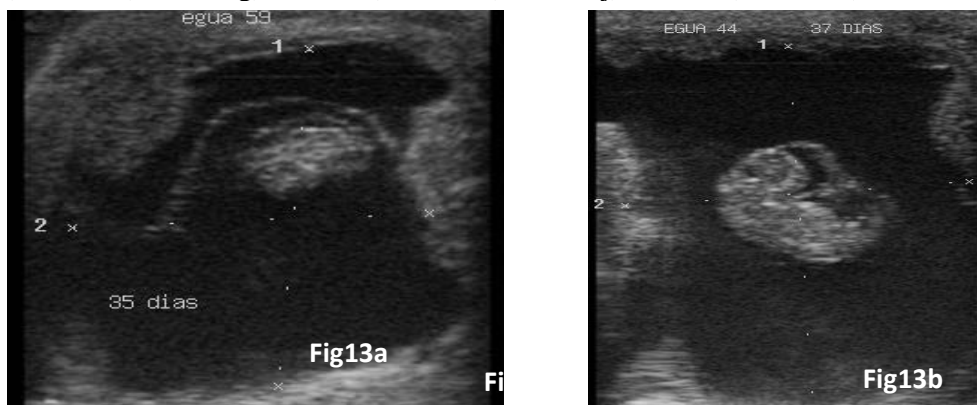


Figura 13. Vesículas embrionárias. a)35 dias; b)37 dias.

A união do alantoide e córion nos dias 25 a 26 inicia a formação da placenta alantocoriônica (Neely, 1983; Ginther, 1995), quando visualizam-se estruturas de aproximadamente 1mm de largura que formarão futuramente os cálices endometriais. A partir deste momento, através de palpação retal, o desenvolvimento do concepto já pode ser identificado como um aumento de volume ventral (Pycock, 2007).

Entre os dias 28 a 30, o saco alantoide ocupa aproximadamente metade do volume do concepto, e o crescimento do saco alantoide, juntamente com a regressão do saco vitelino, mantém o embrião na parte ventral da vesícula (Neely, 1983; Ginther, 1995). Aos 30 dias, a vesícula torna-se alongada, numa formação oval (Roberts, 1986), sendo que o embrião começa a se transportar mais dorsalmente em relação à vesícula (Squires *et al.*, 1988; Ginther, 1995; Newcombe, 2000). Com a estabilidade da placenta alantocoriônica, o saco vitelino começa a regredir a partir dos 35 dias de gestação (Neely, 1983). Aos 36 dias, a vesícula embrionária apresenta-se esférica e achatada, com diâmetro aproximado de oito cm (Squires *et al.*, 1998). O saco vitelino continua a retroceder e o embrião se movimenta para o pólo oposto (Ginther, 1985; Newcombe, 2000). O alantocóron está perto de dominar a placenta, embora o saco vitelino ainda mantenha uma discreta circulação sanguínea. Nessa fase, o embrião apresenta o comprimento de 15 mm (Ginther, 1995).

A partir do 40º dia de gestação, quando se inicia o estágio fetal de desenvolvimento do concepto (Ginther, 1992), o feto e o âmnion são movidos para o pólo oposto substituindo o saco vitelino (Squires *et al.*, 1998; Pycock, 2007), estando a placenta alantocoriônica perto de completar o seu desenvolvimento (Ginther, 1995).

As membranas que separam o saco alantoide e o saco vitelino se fundem quando o feto

atinge o pólo dorsal, aos 40 dias de gestação, formando o cordão umbilical, que normalmente varia de 50 a 100 cm de comprimento (Ginther, 1995; Troedsson e Sage, 2001). Nesta fase, a forma da vesícula é oval, medindo aproximadamente 15 a 25 cm (Ginther, 1995). A partir daí, o diâmetro do concepto excede a imagem do ultrassom, quando o feto é facilmente detectável por palpação retal (Pycock, 2007).

Poucos estudos avaliaram o desenvolvimento embrionário de éguas. Dentre eles, Ginther (1995), acompanhou gestações de pôneis e éguas (176 e 59 observações, respectivamente), dos 9 aos 45 dias de gestação, não observando diferenças entre pôneis e éguas em nenhum dos dias avaliados, quanto às características das vesículas. Entretanto, observou que as vesículas de éguas pareciam maiores que a das pôneis, entre os dias 17 a 28 da gestação. Segundo o autor uma possível explicação poderia ser o maior tamanho do útero das éguas em relação ao das pôneis. A primeira detecção da vesícula embrionária por ultrassonografia, foi, em média, aos  $10,3 \pm 0,2$  dias de gestação (variação de 9 a 12 dias) e aos  $10,2 \pm 0,9$  dias de gestação (variação de 9 a 13 dias), respectivamente, para éguas e pôneis.

Em 2008, Canibal acompanhou as gestações de 13 éguas mini-pôneis, até os 60 dias pós-ovulação, quando observou uma taxa de crescimento da vesícula embrionária de 3,1 mm/dia. Do 16º ao 25º dia de gestação, o crescimento da vesícula foi de 0,37 mm/dia. A partir do 26º dia de gestação, o crescimento diário da vesícula embrionária aumentou para 1,06 mm/dia. A primeira detecção das vesículas foi em média aos  $11,5 \pm 0,4$  dias de gestação (variação de 10 a 13 dias). Na presente avaliação, também foi possível detectar vesículas a partir do 10º dia pós-ovulação.

Ao trabalharem com jumentas, Bessent e Ginther (1988), Gastal *et al.* (1993) e Meira (1995), detectaram vesículas embrionárias a



partir do 10º dia de gestação. Em seu estudo, Gastal *et al.* (1993) observaram o diâmetro médio das vesículas embrionárias de 21 jumentas, aos 10, 11 e 12 dias de gestação, que foram de  $3,6\pm 0,2$  mm,  $4,7\pm 0,3$  mm e  $4,8\pm 0,9$  mm, respectivamente. Valores muito superiores foram demonstrados na presente dissertação, quando em um total de 18 observações de vesículas embrionárias muares, detectou-se, para os mesmos dias, vesículas com  $5,77\pm 5,18$  mm de altura e  $5,96\pm 4,54$  mm de largura,  $13,71\pm 5,18$  mm de altura e  $13,71\pm 4,54$  mm de largura e  $10,32\pm 1,30$  mm de altura e  $10,99\pm 1,14$  mm de largura, respectivamente, para os dias 10, 11 e 12 de gestação (tabela 19). No entanto, vale salientar que das 18 observações mencionadas, uma foi relativa ao dia 10, uma ao dia 11, sendo 16 observações realizadas aos 12 dias de gestação.

Considerando o mesmo período supracitado, Meira (1995), trabalhando com 20 jumentas, observou diâmetros médios das vesículas de  $3,5\pm 0,0$  mm;  $5,3\pm 1,3$  mm e  $8,4\pm 1,7$  mm aos 10, 11 e 12 dias de gestação, respectivamente, demonstrando novamente valores inferiores aos aqui obtidos (tabela 20). Comparando-se os resultados aqui obtidos com os de Meira (1995), observa-se que as vesículas asininas demonstraram tamanhos menores ou similares às vesículas muares durante quase todo o período avaliado, com exceção dos dias 23 e 35, quando as jumentas apresentaram vesículas de tamanho superior àquelas exibidas pelas éguas (tabela 20).

Boeta e Zarco (2005), comparando o desenvolvimento de vesículas embrionárias muares e equinas dos 20 aos 80 dias de gestação, observaram que a taxa de crescimento das vesículas embrionárias de éguas com gestações interespecíes foi numericamente superior à taxa apresentada

pelas vesículas de éguas apresentando gestações intraespecíes ( $1,41\pm 0,15$  mm/dia e  $1,27\pm 0,13$  mm/dia, respectivamente), apesar de não terem diferido estatisticamente ( $p>0,05$ ).

Quando se comparam os diâmetros das vesículas embrionárias no 10º dia pós-ovulação observadas em éguas gestando embriões (equinos -  $3,9\pm 0,3$ ; pôneis -  $3,9\pm 0,2$  - Ginther, 1995), ou mini-pôneis ( $3,8\pm 0,4$  - Canibal, 2008), verifica-se que os tamanhos nessa idade gestacional são praticamente idênticos. Entretanto, no presente experimento, quando se acompanhou o desenvolvimento do embrião muar até os 37 dias de gestação, apenas uma vesícula embrionária foi mensurada aos 10 dias de gestação, com altura de  $5,77\pm 5,18$  e largura de  $5,96\pm 4,54$ , sendo portanto, maior que as apresentadas nos estudos de Ginther (1995) e Canibal (2008). Para os dias 11 e 13 de gestação, a vesícula embrionária de pôneis apresentou um diâmetro, respectivamente, de 4,6 e 5,0 mm para Ginther (1995) e de 6,3 e 7,3 mm para Canibal (2008), enquanto que para éguas foi de 4,8 mm, aos 11 dias de gestação (Ginther, 1995). Para o embrião muar, no presente experimento, uma observação no dia 11 ( $13,71\pm 5,18$  mm de altura e  $13,71\pm 4,54$  mm de largura) e nove observações no dia 13 ( $12,36\pm 1,73$  mm de altura e  $13,88\pm 1,51$  mm de largura), mostraram valores bem superiores aos observados para embriões pôneis e equinos. Isso pode indicar que o desenvolvimento do embrião muar apresenta uma curva de crescimento diferente daquela apresentada para o embrião equino, hipótese que deve ser comprovada com acompanhamentos seriados de éguas gestando embriões híbridos, em número suficiente que permita fazer a comparação.

Tabela 19. Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies (jumento x égua) dos 10 aos 37 dias de gestação

Tempo da Gestação Avaliada por Ultrassonografia	Número de Observações	Altura da Vesícula (mm)	Largura da Vesícula (mm)
10	01	5,77±5,18	5,96±4,54
11	01	13,71±5,18	13,71±4,54
12	16	10,32±1,30	10,99±1,14
13	09	12,36±1,73	13,88±1,51
14	19	17,94±1,19	20,42±1,04
15	06	17,99±2,11	20,81±1,85
16	11	27,46±1,56	27,65±1,37
17	04	25,24±2,59	27,22±2,27
18	06	29,53±2,11	31,48±1,85
19	07	26,82±1,96	28,08±1,72
20	10	30,21±1,64	28,61±1,44
21	02	29,43±3,66	26,45±3,21
22	09	31,28±1,73	29,53±1,51
23	04	26,55±2,59	28,06±2,27
24	03	31,70±2,99	31,99±2,62
25	16	29,68±1,30	31,86±1,14
26	10	31,41±1,64	33,44±1,44
27	12	31,54±1,50	33,26±1,31
28	04	35,28±2,59	37,42±2,27
29	03	33,81±2,99	35,77±2,62
30	08	32,78±1,83	38,58±1,61
31	02	34,50±3,66	33,96±3,21
32	01	41,20±5,18	45,30±4,54
33	01	37,50±5,18	44,80±4,54
35	01	41,80±5,18	35,40±4,54
37	01	63,10±5,18	41,70±4,54

A julgar pelo desenvolvimento inicial, aparentemente mais acelerado dos embriões muares, poderia ser levantada a hipótese de uma possível interferência com o processo de reconhecimento materno da gestação, que poderia ocorrer a diferentes tempos quando comparado ao mesmo processo em uma gestação intraespécie de um garanhão com uma égua. Assim, pode ser que na presença de um embrião muar, de maior tamanho, o processo de migração seja interrompido precocemente, impedindo que o embrião consiga sinalizar adequadamente sua presença, o que poderia gerar uma morte embrionária.

No entanto, os dados disponíveis na literatura acerca do desenvolvimento embrionário e modificações sofridas pelo concepto de equídeos e éguas com gestações

interespécies são escassos (Bessent e Ginther, 1988; Gastal *et al.* 1993). O pleno conhecimento das características normais do desenvolvimento inicial de embriões muares, possibilitará o conhecimento dos parâmetros fisiológicos, bem como a detecção de possíveis anormalidades durante essa fase.

Na presente dissertação, a partir da curva de crescimento embrionário muar construída, observa-se que o tempo de gestação, como variável dependente, avaliado por ultrassonografia, foi influenciado pela largura ( $p < 0,0001$ ) e altura ( $p < 0,0005$ ) da vesícula embrionária, com um  $R^2 = 0,6875$  (coeficiente de determinação). A equação de regressão obtida foi: Gestação (10-37 dias) =  $(0,1876 \times \text{altura}) + (0,3780 \times \text{largura}) + 5,3713$ .

Supondo a mensuração de uma vesícula de 10,99 mm de largura e 10,33 mm de altura, quantos dias de gestação teria esta fêmea? A equação fornece um resultado de 11,46 dias. Consultando a tabela 19, observa-se que estas medidas foram obtidas aos 12 dias

de gestação. Assim, a aplicação desta equação poderia proporcionar ao médico veterinário a possibilidade de estimar a idade gestacional, até os 37 dias, a partir da mensuração da altura e largura da vesícula embrionária pela ultrassonografia.

Tabela 20. Desenvolvimento embrionário, dos 10 aos 37 dias de gestação de vesículas muares e asininas (Meira, 1995)

Tempo da gestação avaliada por ultrassonografia	Altura da vesícula (mm)	Largura da vesícula (mm)	Meira, 1995 (diâmetro - mm)
10	5,77±5,18	5,96±4,54	3,5±0,0
11	13,71±5,18	13,71±4,54	5,3±1,3
12	10,32±1,30	10,99±1,14	8,4±1,7
13	12,36±1,73	13,88±1,51	11,8±2,5
14	17,94±1,19	20,42±1,04	15,57±3,3
15	17,99±2,11	20,81±1,85	19,5±3,6
16	27,46±1,56	27,65±1,37	22,8±4,2
17	25,24±2,59	27,22±2,27	25,9±3,2
18	29,53±2,11	31,48±1,85	27,7±2,7
19	26,82±1,96	28,08±1,72	29,5±1,6
20	30,21±1,64	28,61±1,44	28,8±2,2
21	29,43±3,66	26,45±3,21	29,3±3,0
22	31,28±1,73	29,53±1,51	30,0±3,3
23	26,55±2,59	28,06±2,27	30,5±2,7
24	31,70±2,99	31,99±2,62	30,5±2,7
25	29,68±1,30	31,86±1,14	31,2±2,5
26	31,41±1,64	33,44±1,44	30,6±2,5
27	31,54±1,50	33,26±1,31	31,0±2,3
28	35,28±2,59	37,42±2,27	31,6±2,7
29	33,81±2,99	35,77±2,62	32,6±3,0
30	32,78±1,83	38,58±1,61	33,2±3,2
31	34,50±3,66	33,96±3,21	34,2±2,1
32	41,20±5,18	45,30±4,54	35,7±3,2
33	37,50±5,18	44,80±4,54	37,1±3,4
35	41,80±5,18	35,40±4,54	40,1±3,5
37	63,10±5,18	41,70±4,54	44,5±3,4



## 5.2. Experimento II

**Experimento IIa - Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen a Fresco Diluído nos Diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO).**

**Experimento IIb – Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen Diluído nos Diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO), Resfriado e Estocado à 5°C em Contêiner Especial.**

5.2.1. Eficiência reprodutiva de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado.

Foram inseminadas 208 éguas durante a estação de monta 2007/2008, estando os parâmetros de controle e de resultados obtidos para os diferentes tratamentos do experimento II, apresentados na tabela 21.

Observa-se na tabela 21, que as taxas de concepção, ao primeiro ciclo, as de concepção por ciclo, e as de concepção total, não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos, assim como a duração da gestação e o sexo dos produtos. Já as taxas de perdas gestacionais, obtidas através das taxas de perda e de perda ajustada, foram influenciadas ( $p<0,05$ ) pelos tratamentos, o que também foi verificado para as taxas de parto e de parto ajustada.

A utilização do sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose ou glicina-gema de ovo, responderam por taxas de concepção, ao primeiro ciclo, similares ( $p>0,05$ ), de 64,52%, 61,11%, 50,72% e 54,17%, para os tratamentos T1, T2, T3 e T4,

respectivamente, com média de 55,77% (tabela 21).

Ao comparar-se os resultados do presente trabalho com os apresentados pela literatura e que também utilizaram diluidores à base de gema de ovo, observa-se uma similaridade entre os mesmos, como demonstrado por Silva (1988) e Palhares *et al.* (1986). Entretanto, foram bem inferiores aos obtidos por Ferreira (1993).

Em um trabalho envolvendo 240 éguas, inseminadas com sêmen a fresco diluído em diluidor lactose-gema de ovo, oriundo de asininos, Silva (1988), obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 52,4%, 52,2% e 68,5%, durante três estações de monta consecutivas. Ao utilizarem o mesmo diluidor, porém inseminando jumentas, Palhares *et al.* (1986) obteve uma taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 57%. Já Ferreira (1993), também utilizando o sêmen diluído em diluidor lactose-gema de ovo, porém resfriado, obteve uma taxa de concepção/ciclo média de 82,70%. No presente estudo, as taxas de concepção, ao primeiro ciclo, alcançadas com o sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor glicina-gema de ovo, registraram valores de 61,11% e 54,17%, respectivamente, que não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si.

Observa-se, ainda, na tabela 21, que as taxas de concepção/ciclo, foram de 63,64%, 54,55%, 52,69% e 47,06%, para os quatro tratamentos avaliados (T1, T2, T3 e T4, respectivamente) e não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si. Em relação aos trabalhos que utilizaram diluidor à base de leite em pó desnatado, e considerando-se as taxas de concepção/ciclo obtidas aqui, quando do uso do sêmen a fresco diluído, observa-se resultados similares aos demonstrados por Leite (1994) e Silva Filho *et al.* (1994).

Tabela 21. Características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto

Parâmetros Reprodutivos Avaliados	Tratamentos				Total
	T1-Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído em LPDG	T2- Éguas inseminadas com sêmen fresco diluído em GGO	T3- Éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado (LPDG)	T4 - Éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado (GGO)	
	Número de Éguas	31	36	69	
Número de Ciclos	33	44	93	102	272
Taxa de concepção ao 1º ciclo (%)	64,52 (20/31)	61,11 (22/36)	50,72 (35/69)	54,17 (39/72)	55,77 (116/208)
Taxa de concepção/ciclo (%)	63,64 (21/33)	54,55 (24/44)	52,69 (49/93)	47,06 (48/102)	52,21 (142/272)
Taxa de concepção total (%)	67,74 (21/31)	66,67 (24/36)	71,01 (49/69)	66,67 (48/72)	68,27 (142/208)
Duração da gestação (dias)	339,83± 4,25 (06)	337,00± 3,47 (09)	344,47± 1,90 (30)	346,12± 2,04 (26)	343,73± 1,26 (71)
Tempo de gestação ao último controle gestacional (dias)	25,54± 5,93 (13) <sup>b</sup>	22,60± 6,76 (10) <sup>b</sup>	48,43± 8,08 (07) <sup>a</sup>	36,33± 5,52 (15) <sup>ab</sup>	32,04 ± 3,36 (45)
Perdas gestacionais					
Taxa de perda (%)	61,90 (13/21) <sup>a</sup>	41,67 (10/24) <sup>ab</sup>	14,29 (7/49) <sup>c</sup>	31,25 (15/48) <sup>bc</sup>	31,69 (45/142)
Taxa de perda ajustada (%)	61,90 (13/21) <sup>a</sup>	45,45 (10/22) <sup>ab</sup>	15,22 (7/46) <sup>c</sup>	31,91 (15/47) <sup>bc</sup>	33,09 (45/136)
Taxa de parto (%)	38,10 (8/21) <sup>c</sup>	50,00 (12/24) <sup>bc</sup>	79,59 (39/49) <sup>a</sup>	66,67 (32/48) <sup>ab</sup>	64,08 (91/142)
Taxa de parto ajustada (%)	38,10 (8/21) <sup>c</sup>	54,55 (12/22) <sup>bc</sup>	84,78 (39/46) <sup>a</sup>	68,09 (32/47) <sup>ab</sup>	66,91 (91/136)
Partos não registrados	0,00	02	03	01	06
Sexo dos Produtos					
Masculino (%)	50,00 (04)	58,33 (07)	39,47 (15)	43,75 (14)	44,44 (40)
Feminino (%)	50,00 (04)	41,67 (05)	60,53 (23)	56,25 (18)	55,56 (50)

<sup>a,b,c</sup> Médias na linha seguidas por letras diferentes, diferem entre si (p<0,05).

O uso do leite em pó desnatado como um dos componentes do meio diluidor foi primeiramente relatado por Kenney *et al.* (1983), quando obtiveram uma taxa de concepção de 58% para éguas inseminadas com garanhões. Leite (1994) utilizou o sêmen a fresco de asininos, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose, com dose inseminante de 400 milhões de espermatozoides móveis e, obteve taxas de concepção/ciclo, para os intervalos 0-24 e 24-48 horas, respectivamente, de 76,92% e de 64,70%, as quais não diferiram (p>0,05) entre si. No estudo de Silva Filho *et al.* (1994), quando foram inseminadas 117 éguas, registrou-se uma taxa de concepção/ciclo de 64,86% para o sêmen “*in natura*”,

e de 73,74% para o sêmen diluído em diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose. Silva (1988) obteve uma taxa de concepção/ciclo para as três estações de monta acompanhadas, de 59,4%, portanto, ligeiramente superior à obtida no presente estudo, de 52,21%.

Enfatiza-se que, no presente experimento, quando do uso do diluidor glicina-gema de ovo para o sêmen resfriado, obteve-se uma taxa de concepção/ciclo de 47,06%, que não diferiu (p>0,05) das dos demais tratamentos. Também é importante considerar que este tratamento (T4) apresentou o maior número amostral, em relação aos demais. Considerando-se que não há relatos na literatura envolvendo o uso do diluidor

glicina-gema de ovo para a diluição do sêmen de asininos, mais estudos nesse sentido se fazem necessários, enfatizando a importância dos testes “*in vivo*”, de forma a mensurar seu efeito sobre a fertilidade de éguas inseminadas.

De maneira geral, as taxas de concepção obtidas neste experimento, tanto para sêmen a fresco diluído, quanto para o resfriado, apresentaram-se superiores às relatadas por Jordão *et al.* (1954), que obtiveram uma taxa de 35,9% durante o acompanhamento de éguas cobertas por monta natural à pasto com jumentos, por 14 estações de monta. Condições associadas ao manejo nutricional e reprodutivo, como o acompanhamento folicular diário e o uso da inseminação artificial, podem responder pelos melhores resultados obtidos no presente experimento.

O processamento do sêmen, durante o resfriamento e estocagem do mesmo, não resultou em prejuízo às taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen asinino, assim como observado por Ferreira (1993). Entretanto, no presente estudo, as taxas de concepção/ciclo obtidas nos tratamentos em que se utilizou o diluidor glicina-gema de ovo (T2 e T4) foram inferiores às obtidas por Ferreira (1993), ao utilizar sêmen diluído em diluidor à base de lactose-gema de ovo (Nagase e Graham, 1964, modificado), e resfriado a 4°C por 24 (80%) ou 48 horas (75,90%). Observa-se que Ferreira (1993) estocou o sêmen por um período superior ao utilizado aqui, de 12 horas. Entretanto, a autora utilizou sêmen de apenas um jumento para realizar a inseminação das éguas, que em sua fertilidade excepcional, pode ter sido responsável pelas altas taxas de concepção observadas naquele trabalho. Para Jasko *et al.* (1992), taxas de concepção obtidas com sêmen refrigerado por até 24 horas são similares às obtidas com o sêmen a fresco, afirmativa confirmada no presente trabalho.

Considerando-se a escassez de literatura envolvendo a eficiência de diferentes

diluidores “*in vivo*”, para o sêmen de asininos, pode-se afirmar que as taxas de fertilidade obtidas com o sêmen diluído nos dois diluidores utilizados foram satisfatórias, apresentando valores similares aos obtidos nos trabalhos envolvendo asininos, e até naqueles que utilizaram reprodutores equinos.

A taxa de perda gestacional entre a concepção e o parto, no presente experimento, foi de 33,09%, similar à obtida por Boeta e Zarco (2005), de 36,8%, e muito superior à demonstrada por Ferreira (1993), de 5,5%, e por Garg e Manchanda (1986), de 10,4%. No que se refere às taxas de perda ajustada, foram de 61,90%, 45,45%, 15,22% e 31,91% para os tratamentos T1, T2, T3, e T4, respectivamente (gráfico 2). Os resultados observados, tanto neste estudo, quanto no de Boeta e Zarco (2005), demonstram valores de perda muito superiores aos obtidos para éguas inseminadas com o sêmen de garanhões, que, segundo Ginther (1992), variaram de 7 a 16%, entre os dias 20 e 90 da gestação.

Incidência de perdas gestacionais tão altas quanto no estudo de Boeta e Zarco (2005) e no presente trabalho, foram observadas por Lucas *et al.* (1991), ao trabalharem com éguas selvagens. Através da mensuração de estrógenos em amostras fecais de fêmeas com idades entre um e quatro anos, os autores observaram taxa de perda gestacional média, após os 120 dias de gestação, de 32,3%. As maiores taxas de perda (70% e 46,3%) foram registradas para o grupo de potras com um e dois anos de idade, respectivamente. Os autores atribuíram estes achados à imaturidade das fêmeas púberes, já que as éguas de três e quatro anos de idade apresentaram taxas de perda gestacional de 16,7% e 5,6%, respectivamente, valores similares aos observados para fêmeas equinas domésticas cobertas com garanhões (Ginther, 1992).

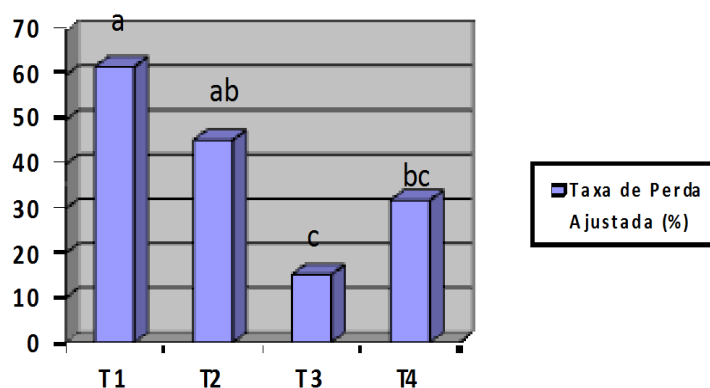


Gráfico 2. Taxa de perdas gestacionais observadas em éguas inseminadas com sêmen asinino, diluído ou diluído e resfriado, da concepção ao parto.

<sup>a,b,c</sup> Valores acompanhados por letras diferentes, diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

T1- éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído em LPDG (n=31); T2- éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído em GGO (n=36), T3- éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor LPDG e resfriado à 5° C (n=69); T4- éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor GGO e resfriado à 5° C (n=72).

Boeta e Zarco (2005) compararam a incidência de perda gestacional em éguas gestando embriões muares ou equinos até os 150 dias de gestação, e observaram uma maior incidência de perdas nas fêmeas inseminadas com jumentos (36,8%), em relação ao grupo de éguas cobertas por garanhões (21,4%). Todas as perdas observadas no primeiro grupo ocorreram após os 40 dias da ovulação, sendo então classificadas como perdas fetais. Já Ferreira *et al.* (1993) observaram perdas gestacionais, entre 30 e 50 dias de gestação, em 5,5% das éguas inseminadas com sêmen de jumento diluído e resfriado, sendo esta taxa similar à descrita para éguas com gestações intraespécies. Na mesma direção, Garg e Manchanda (1986) observaram uma taxa de aborto de 10,4% em éguas cobertas com reprodutores asininos, frequência superior à observada para cobrições envolvendo garanhões, que foi de 7,8%. Enfatiza-se os diferentes períodos de acompanhamento gestacional, responsáveis pela variabilidade dos resultados encontrados. Não há relatos na literatura sobre o acompanhamento de toda a gestação, o que tem impossibilitado determinar em que período concentram-se

as perdas em éguas com gestações interespécies (égua x jumento).

Ao utilizar sêmen asinino congelado, Canisso (2008) avaliou o efeito de diluidores sobre a fertilidade de éguas inseminadas. Neste experimento, observou-se que as taxas de perda embrionária entre os dias 13 e 25, e entre os dias 25 e 35 da gestação, foram de 18,75% e 61,53%, respectivamente, para o diluidor de Nagase e Graham (1964) modificado; e de 6,67% e 78,57%, respectivamente, para o diluidor proposto por Martin *et al.* (1979). As taxas de morte embrionária, obtidas até os 35 dias de gestação, apresentaram-se superiores às descritas na literatura para éguas inseminadas ou cobertas com garanhões. Vale ressaltar que o uso do sêmen congelado tem sido associado com um maior percentual de perdas gestacionais em relação ao sêmen a fresco, resfriado ou da monta natural, como demonstrado por outros estudos (Moberg, 1975; Squires *et al.* 1984; Villahoz 1985). Entretanto, o efeito negativo da manipulação do sêmen sobre o desenvolvimento embrionário não foi observado por Klug *et al.* (1975), que obtiveram taxa de morte embrionária de

14,5% com o sêmen equino congelado, valor similar aos descritos anteriormente por Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011), que variaram de 7% a 15%.

No presente estudo, a maior incidência de perdas gestacionais ajustadas (61,90%) foi observada no grupo de éguas submetidas à inseminação com sêmen a fresco diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (T1), sendo a menor incidência (15,22%) associada à utilização do sêmen diluído no mesmo diluidor, porém resfriado (T3). As perdas gestacionais observadas para o tratamento T2 (45,45%) não diferiram ( $p>0,05$ ) das observadas para os tratamentos T1 (61,90%) e T4 (31,91%), embora diferissem ( $p<0,05$ ) da observada no T3 (15,22%). Os resultados obtidos para T3 e T4 também não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si.

As perdas gestacionais refletiram em menores taxas de parto ajustada para T1 (38,10%) e maiores para T3 (84,78%), que diferiram ( $p<0,05$ ) entre si. A taxa de parto observada para T2 (54,55%) não diferiu ( $p>0,05$ ) das observadas para T1 (38,10%) e T4 (68,09%). Além disso, as taxas de parto para T3 e T4 também não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si.

Boeta e Zarco (2005) e Acosta (2008), relataram menores ( $p<0,05$ ) concentrações circulantes de gonadotrofina coriônica equina (eCG) em éguas inseminadas com sêmen de jumentos, quando comparadas às éguas inseminadas com sêmen de garanhões. Além disso, observaram que as concentrações deste hormônio retornaram a níveis basais precocemente nas éguas gestantes de embriões muares. Demonstrou-se, ainda, que as concentrações circulantes de progesterona não aumentaram entre os dias 35 e 49 de gestação, como observado nas éguas gestando embriões equinos, indicando que as baixas concentrações de eCG não estimularam a função lútea no grupo de éguas com gestação interespecie. Entretanto, Acosta (2008)

confirmou que mesmo na presença de menores concentrações circulantes de eCG, houve formação de corpos lúteos acessórios em éguas inseminadas com sêmen asinino, apesar de ocorrerem mais tardiamente e em menor número.

Também no estudo de Boeta e Zarco (2005) observou-se que as baixas concentrações de eCG e de progesterona, em éguas gestando embriões muares, não afetaram a sobrevivência embrionária, uma vez não ter havido diferenças nas concentrações desses hormônios entre éguas que levaram as gestações a termo e naquelas que as perderam. Este achado corrobora com as conclusões de Allen (1984; 2001), de que a eCG não é essencial para a manutenção da gestação em éguas.

Mesmo sob baixas concentrações de progesterona, a taxa de crescimento da vesícula embrionária em éguas inseminadas com sêmen de jumentos foi similar à observada em éguas inseminadas com sêmen de garanhões, bem como às citadas por outros autores em éguas pôneis (Ginther, 1986). Isso indica que possivelmente concentrações mínimas de progesterona sejam necessárias para a manutenção da gestação na égua (Allen, 1984; Bergfelt *et al.*, 1992), sendo este limiar consideravelmente menor que aquele atingido durante gestações intraespecie. Desta forma, a baixa concentração de progesterona observada em éguas gestando embriões muares pode ser, na maioria dos casos, suficiente para atingir este limiar exigido para a manutenção da gestação, acompanhada por crescimento embrionário normal (Boeta e Zarco, 2005).

Nas gestações interespecie, a regressão prematura dos cálices endometriais não induz o abortamento, em virtude das alterações endócrinas observadas. No entanto, a reação imune humoral e celular contra antígenos da cinta coriônica (Kydd *et al.*, 1991; Allen, 2001) pode causar danos à placenta, afetando a sobrevivência do

concepto. As perdas gestacionais em éguas gestando embriões asininos estiveram associadas à falha na formação de microcotilédones, bem como a uma intensa resposta leucocitária de origem materna na região endometrial em contato direto com as membranas fetais (Allen, 2001). Apesar das diferenças genóticas entre embriões asininos e muares, a ocorrência de falhas no desenvolvimento placentário dos últimos não pode ser descartada (Boeta e Zarco, 2005).

Embora a luteólise ativa seja geralmente secundária à outras alterações, é possível que a falta de eCG torne as éguas inseminadas ou cobertas com jumentos mais susceptíveis a liberação endógena de PGF-2 $\alpha$ . Allen (2001) propôs que após o 40º dia de gestação, a eCG protege a égua gestante dos efeitos luteolíticos da PGF-2 $\alpha$ . Para confirmar tal hipótese, Cantón (2008) administrou o luteolítico à éguas gestantes de embriões muares ou equinos, aos 90 dias de gestação. As concentrações de progesterona e de eCG foram mensuradas antes e após a administração do luteolítico. Os resultados demonstraram uma correlação positiva ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de eCG antes da administração, e as concentrações de progesterona 48 horas após o tratamento. Apenas um aborto foi observado em uma égua gestando embrião muar, concluindo-se que as éguas com gestações híbridas são mais susceptíveis ao efeito luteolítico da PGF-2 $\alpha$ .

Há ainda que se considerar que o embrião equino libera PGF2 $\alpha$  como fator estimulador das contrações uterinas, durante o período de migração embrionária. Quando associadas, a PGF2 $\alpha$  e a PGE2 produzidas pelo embrião, estimulam localmente as contrações peristálticas e o relaxamento do miométrio, requeridos para propelir o concepto ao longo do lúmen uterino durante o período do reconhecimento materno da gestação (Stout e Allen, 2000). Qual seria o impacto da PGF2 $\alpha$  embrionária sobre a continuação da

gestação inicial de éguas gestando embriões muares?

A literatura é escassa no que diz respeito à eficiência reprodutiva de éguas cobertas ou inseminadas por reprodutores asininos. A continuidade dos estudos nessa linha de pesquisa não somente é necessária como é uma demanda do criador, já que as perdas gestacionais tem se mostrado substancialmente maiores na criação de muares, gerando grande ônus às fazendas.

Com relação ao parâmetro duração da gestação, não se observou influência ( $p > 0,05$ ) do tratamento, sendo os valores de  $339,83 \pm 4,25$ ,  $337,00 \pm 3,47$ ,  $344,47 \pm 1,90$  e  $346,12 \pm 2,04$  para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente, com uma média de  $343,73 \pm 1,26$  dias. Valores similares foram obtidos por Jordão *et al.* (1954), com média de  $349,70 \pm 1,50$  dias. Neste estudo, o autor investigou a possível influência da época do parto sobre o período gestacional, e verificou que as gestações que terminaram durante o inverno (junho e agosto) apresentaram uma média mais elevada, de 353,3 dias. Por sua vez, as éguas com parto nos meses de março a maio apresentaram a menor média (344,5 dias). Entretanto, os valores não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si.

Alguns estudos demonstraram grandes variações na duração da gestação entre raças de equinos (Pérez *et al.*, 2003). Valera *et al.* (2006) observaram uma duração média da gestação de 336,8 dias para éguas da raça Andaluz e de 340,3 dias para éguas da raça Árabe. A maior variação foi encontrada entre as éguas da raça Andaluz, com uma diferença de 79 dias entre os valores extremos, enquanto que para as fêmeas da raça Árabe esta diferença foi de 54 dias. Em ambas as raças, a maior frequência foi encontrada na classe modal de 335-340 dias, compreendendo 23% das observações.

Trabalhando com éguas Puro-Sangue durante nove anos na Austrália, Ropiha *et al.* (1969) observaram duração da gestação variando de 315 a 387 dias. Ainda com

relação à raça Árabe, foram descritos valores mínimos de duração da gestação de 330,0 dias (Ponomarenko, 1991) e máximos de 341,7 dias (Vivo *et al.*, 1984).

No Brasil, Unanian e Pereira (1991), ao estudarem a duração da gestação em 23 éguas da raça Puro Sangue Inglês, e em 20 Árabe cruzadas, observaram médias de  $330 \pm 6,35$  (307 a 363) e  $337,5 \pm 2,47$  (317 a 361), respectivamente. Em estudo recente, Valente *et al.* (2006) observaram uma duração média da gestação em éguas árabes de  $330,42 \pm 9,89$  dias, confirmando os resultados para a raça no Brasil (Unanian, 1991), porém ligeiramente inferior aos estudos realizados em outros países, de  $332,1 \pm 3,3$  dias (El-Wishy *et al.*, 1990),  $335,84 \pm 0,46$  (Dermici, 1988), e  $341,7 \pm 10$  (Vivo *et al.*, 1984). As diferenças apresentadas entre animais da mesma raça podem ser explicadas por fatores ambientais.

De acordo com os resultados de Valera *et al.* (2006), a égua em si é o principal fator a influenciar o tempo de gestação. A correlação entre diferentes gestações de uma mesma égua foi moderada (0,38-0,40), mas altamente significativa. Também foram mostrados valores de herdabilidade (0,21 para ambas as raças) e repetibilidade (mais de 0,35 para ambas as raças), ambos apresentando uma magnitude suficiente para permitir a seleção desta variável em uma direção determinada. Anteriormente, Zwolinski (1961) e Ropiha *et al.* (1969) já haviam observado diferenças individuais altamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre éguas. Os efeitos raciais das fêmeas sobre a duração da gestação não pôde ser avaliado no presente estudo, uma vez que o rebanho utilizado era composto de éguas mestiças.

Rollins e Howell (1951) não observaram efeito do mês da concepção sobre a duração da gestação. Entretanto, demonstrou-se um incremento numérico na duração da gestação para potros concebidos no mês de abril, em relação aos outros meses. O mesmo foi observado por Zwolinski (1961) na

Polônia, quando obteve-se maiores períodos gestacionais para éguas que conceberam no mesmo mês citado. Ainda, no estudo de Ropiha *et al.* (1969), o mês de outubro (que corresponde ao mês de abril no hemisfério sul), respondeu pelo maior período gestacional, sendo cerca de 10 dias superior a média.

O sexo dos produtos não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos (tabela 21), com valores para os produtos masculinos variando de 39,47 a 58,33%, embora para os produtos femininos, tenham variado de 41,67% a 60,53%. Resultados similares foram demonstrados por Palhares (1989), que observou, em 374 animais da raça Mangalarga Marchador, uma proporção de 51,9% de fêmeas e 48,1% de machos, que não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. De maneira similar, Valera *et al.* (2006), trabalhando com éguas das raças Andaluz e Árabe, registraram o nascimento de 50,9 e 44,9% de produtos machos, e 49,1 e 55,1% de fêmeas, respectivamente.

Por outro lado, Zwolinski (1960), avaliando 4260 concepções de 867 éguas, observou influência do mês de concepção sobre o sexo do produto. Gestações concebidas entre a segunda metade do mês de maio e a primeira metade do mês de junho, resultaram no nascimento de mais machos que fêmeas, enquanto a concepção em outras épocas do ano resultou no nascimento de maior proporção de fêmeas.

Cameron *et al.* (1999) demonstraram a influência da condição corporal sobre o sexo do potro nascido. Assim, ao utilizarem a classificação da condição corporal proposta por Carrol e Huntingdon (1988), em uma escala de 1 a 5, observaram que éguas apresentando condição corporal 2 pariram maior proporção de fêmeas, enquanto éguas com condição corporal 2,5 conceberam ( $p < 0,05$ ) mais machos. Para os outros escores de condição corporal não foram observadas diferenças. Os autores concluíram ser a condição materna no

momento da concepção e durante a gestação, um bom preditor do sexo do produto (regressão logística,  $X^2=7,89$ ,  $df=1$ ,  $p<0,01$ ). Por outro lado, a condição corporal na metade da gestação, apesar de sua correlação com a condição corporal no momento da concepção ( $r=0,36$ ), não diferiu entre éguas paridas de indivíduos do sexo masculino ou feminino.

5.2.2. Efeito do jumento sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, da concepção ao parto.

No experimento IIa, envolvendo a avaliação da fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO), utilizou-se quatro jumentos, representados pelos números 1, 3, 4 e 5. No experimento IIb, avaliou-se a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído nos mesmos diluidores, porém resfriado. Neste experimento, foram utilizados os mesmos reprodutores, acrescentando-se mais um, representado pelo número 2. Os dados relativos aos cinco jumentos utilizados estão apresentados na tabela 22. Ainda, visando avaliar o efeito de jumentos sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, eliminou-se das análises estatísticas os dados do jumento 2, em virtude de ter sido, o mesmo, utilizado para inseminar apenas quatro ciclos de éguas (tabela 23).

Observa-se na tabela 22, que as taxas de concepção, ao primeiro ciclo, e de concepção/ciclo, foram de 41,51%, 50,00%, 44,12%, 49,02% e 78,79%; e de 41,56%, 50,00%, 41,30%, 48,57% e 73,33%, para os jumentos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Quando comparados os cinco reprodutores entre si (tabela 22), observa-se que a taxa

de concepção, ao primeiro ciclo, diferiu ( $p<0,05$ ) entre os jumentos 1 e 5; 3 e 5; e 4 e 5. Os mesmos resultados foram verificados para a taxa de concepção por ciclo, demonstrando-se em todos os casos uma superioridade ( $p<0,05$ ) do jumento 5. Observa-se, entretanto, que os valores apresentados pelos jumentos 1,3 e 4, no que se refere às taxas de concepção ao primeiro ciclo e concepção/ciclo não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si. Além disso, as duas variáveis apresentadas pelo jumento 2 não diferiram ( $p>0,05$ ) das observadas nos outros quatro jumentos (1, 3, 4 e 5). Já a taxa de concepção total, não diferiu ( $p>0,05$ ) entre os cinco reprodutores avaliados. A duração da gestação foi influenciada ( $p<0,05$ ) pelo jumento, sendo superior para o reprodutor 2 em relação aos demais, os quais não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si. Por outro lado, não se observou influência ( $p>0,05$ ) do reprodutor sobre o sexo dos produtos.

Com relação às perdas gestacionais, avaliadas pelas taxas de perda, perda ajustada, taxa de parto e de parto ajustada, não houve influência ( $p>0,05$ ) do reprodutor. Sobre as mesmas, enfatiza-se que seis partos não foram registrados, em função da morte de duas e venda de quatro fêmeas equinas, sendo duas éguas pertencentes ao grupo de éguas inseminadas pelo jumento 1, uma do jumento 3, uma do jumento 4 e finalmente duas éguas do jumento 5.

A literatura é unânime no que diz respeito às variações individuais entre os reprodutores. Assim, Pickett *et al.* (1970) encontraram diferenças significativas entre ejaculados de diferentes garanhões e de um mesmo garanhão. Embora seja controverso, muitos autores observaram que a percentagem de espermatozoides, morfológicamente normais ou anormais, esteja relacionada com a taxa de concepção (Parkinson, 2004).

Assim, Pimentel *et al.* (1989) compararam a fertilidade de quatro garanhões utilizados



em monta natural. Os mesmos foram submetidos a exame andrológico duas vezes durante a estação de monta, sendo a porcentagem de espermatozoides morfológicamente normais determinada para cada um. Os garanhões 1, 2, 3 e 4 apresentaram 40%, 68%, 82% e 61% de espermatozoides normais, respectivamente, com taxas de concepção de 69%, 83%, 87% e 80%, respectivamente. Uma análise de regressão revelou uma correlação positiva ( $p < 0,01$ ) entre os percentuais de espermatozoides normais e as taxas de concepção obtidas. Dessa forma, concluiu-se que a taxa de concepção pode ser estimada com base na porcentagem de espermatozoides morfológicamente normais no ejaculado, a partir da equação  $y = 52,38 + 0,44x$ ;  $r^2 = 97,8\%$ .

No presente experimento, observou-se que as taxas de concepção, ao primeiro ciclo, variaram ( $p < 0,05$ ) de 41,51% a 78,79%, demonstrando-se, assim como na espécie equina, grande variação individual entre machos da espécie asinina. Palhares *et al.* (1986) inseminando jumentas, observaram uma taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 57%, enquanto Silva (1988), ao inseminar éguas, visando a produção de muare, obteve taxas de concepção de 52,4%, 52,2% e 68,5%, em três estações de monta consecutivas.

No que diz respeito à taxa de concepção por ciclo e, quando comparados os cinco jumentos entre si, manteve-se o mesmo quadro observado para o primeiro ciclo, com taxas de concepção/ciclo variando de 41,30% à 73,33% ( $p < 0,05$ ). Excluindo-se o jumento 2, e comparando-se os demais, comuns aos dois experimentos, não houve influência ( $p > 0,05$ ) do reprodutor sobre a taxa de concepção/ciclo, embora tenham variado de 41,56% a 73,33% (tabela 23). Por outro lado, mesmo as taxas apresentadas pelo melhor jumento utilizado (J5) no presente experimento, ficaram aquém das obtidas por Ferreira (1993), que ao utilizar

sêmen resfriado, diluído em diluidor à base de lactose-gema de ovo (Nagase e Graham, 1964 modificado), obteve uma taxa de concepção/ciclo de 82,70%. Vale ressaltar que a mesma autora utilizou apenas um jumento para a inseminação das éguas, considerado no trabalho como o de melhor desempenho quando da avaliação do sêmen *in vitro*. Enfatiza-se no presente experimento, o excelente desempenho demonstrado pelo reprodutor 5, que apresentou uma taxa de concepção de 78,79% ao primeiro ciclo.

Vidament *et al.* (2005) utilizaram o sêmen asinino para inseminar éguas, após retirada do plasma seminal por centrifugação, diluindo-o em diluidor à base de gema de ovo (INRA82-Y), previamente ao resfriamento e estocagem à 4°C. Neste experimento, obtiveram uma taxa de concepção/ciclo de 63%, superior à encontrada para os jumentos 1, 2, 3 e 4, embora inferior à observada pelo jumento 5, no presente experimento, para a mesma variável analisada (tabelas 22 e 23).

Os dados do presente experimento reafirmam que o reprodutor constitui importante fonte de variação, que deve ser considerada quando do estabelecimento do número de éguas a serem inseminadas ou cobertas por monta natural com cada macho (Rossi, 2008). Segundo Rousset *et al.* (1987) a capacidade reprodutiva de um garanhão somente poderia ser avaliada após pelo menos seis estações de monta, se o garanhão cobrir no mínimo 25 ciclos/ano. Para Kenney *et al.* (1983) um garanhão deveria servir 40 éguas em monta natural, ou 120 em inseminação artificial, e obter taxa de concepção de 75% para ser considerado fértil. É importante considerar que o manejo correto é fundamental para que o garanhão expresse seu máximo potencial reprodutivo. Segundo Hurtgen (1992), quando submetidos a um manejo adequado, garanhões subferteis podem atingir taxa de nascimento razoável.

Tabela 22. Efeito do jumento sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, da concepção ao parto

Parâmetros Reprodutivos	Jumentos					Total	
	Avaliados		1	2	3		4
Número de Éguas	53		04	34	51	66	208
Número de Ciclos	77		04	46	70	75	272
Taxa de concepção ao 1º ciclo (%)	41,51 (22/53) <sup>b</sup>		50,00 (2/4) <sup>ab</sup>	44,12 (15/34) <sup>b</sup>	49,02 (25/51) <sup>b</sup>	78,79 (52/66) <sup>a</sup>	55,77 (116/208)
Taxa de concepção/ciclo (%)	41,56 (22/53) <sup>b</sup>		50,00 (2/4) <sup>ab</sup>	41,30 (19/46) <sup>b</sup>	48,57 (34/70) <sup>b</sup>	73,33 (55/75) <sup>a</sup>	52,21 (142/272)
Taxa de concepção total (%)	62,75 (32/51)		66,67 (2/3)	55,88 (19/34)	64,15 (34/53)	82,09 (55/67)	68,27 (142/208)
Duração da gestação (dias)	341,39± 2,93 (13) <sup>b</sup>		365,00± 10,56 (1) <sup>a</sup>	345,70± 3,34 (10) <sup>b</sup>	343,30± 2,36 (20) <sup>b</sup>	343,67± 2,03 (27) <sup>b</sup>	343,73± 1,26 (71)
<b>Perdas gestacionais</b>							
Taxa de perda (%)	31,25 (10/32)		50,00 (1/2)	36,84 (7/19)	26,47 (9/34)	32,73 (18/55)	31,69 (45/142)
Taxa de perda ajustada (%)	33,33 (10/30)		50,00 (1/2)	38,89 (7/18)	27,27 (9/33)	33,96 (18/53)	33,09 (45/136)
Taxa de parto (%)	62,50 (20/32)		50,00 (1/2)	57,89 (11/19)	70,59 (24/34)	63,64 (35/55)	64,08 (91/142)
Taxa de parto ajustada (%)	66,67 (20/30)		50,00 (1/2)	61,11 (11/18)	72,73 (24/33)	66,04 (35/53)	66,91 (91/136)
Partos não registrados	02		0,00	01	01	02	06
<b>Sexo dos Produtos</b>							
Masculino (%)	35,00 (7)		0,00	45,45 (5)	37,50 (9)	55,88 (19)	44,44 (40)
Feminino (%)	65,00 (13)		100 (1)	54,55 (6)	62,50 (15)	44,12 (15)	55,56 (50)

<sup>a,b</sup>. Médias seguidas por letras diferentes na linha, diferem entre si (p<0,05).

Tabela 23. Efeito do jumento sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, da concepção ao parto, excluindo-se o jumento 2

Parâmetros Reprodutivos	Jumentos				Total	
	Avaliados		1	3		4
Número de Éguas	53		34	51	66	204
Número de Ciclos	77		46	70	75	268
Taxa de concepção ao 1º ciclo (%)	41,51 (22/53) <sup>b</sup>		44,12 (15/34) <sup>b</sup>	49,02 (25/51) <sup>b</sup>	78,79 (52/66) <sup>a</sup>	55,88 (114/204)
Taxa de concepção/ciclo (%)	41,56 (32/77)		41,30 (19/46)	48,57 (34/70)	73,33 (55/75)	52,24 (140/268)
Taxa de concepção total (%)	62,75 (32/51) <sup>b</sup>		55,88 (19/34) <sup>b</sup>	64,15 (34/53) <sup>b</sup>	82,09 (55/67) <sup>a</sup>	68,29 (140/268)
Duração da gestação (dias)	341,39 ± 2,93 (13) <sup>b</sup>		345,70 ± 3,34 (10) <sup>b</sup>	343,30 ± 2,36 (20) <sup>b</sup>	343,67 ± 2,03 (27) <sup>b</sup>	343,43 ± 2,03 (70)
<b>Perdas gestacionais</b>						
Taxa de perda (%)	31,25 (10/32)		36,84 (7/19)	26,47 (9/34)	32,73 (18/55)	31,43 (44/140)
Taxa de perda ajustada (%)	33,33 (10/30)		38,89 (7/18)	27,27 (9/33)	33,96 (18/53)	32,84 (44/134)
Taxa de parto (%)	62,50 (20/32)		57,89 (11/19)	70,59 (24/34)	63,64 (35/55)	64,29 (90/140)
Taxa de parto ajustada (%)	66,67 (20/30)		61,11 (11/18)	72,73 (24/33)	66,04 (35/53)	67,16 (90/134)
Partos não registrados	02		01	01	02	06
<b>Sexo dos Produtos</b>						
Masculino (%)	35,00 (7)		45,45 (5)	37,50 (9)	55,88 (19)	44,94 (40)
Feminino (%)	65,00 (13)		54,55 (6)	62,50 (15)	44,12 (15)	55,06 (49)

<sup>a,b</sup>. Médias seguidas por letras diferentes na linha, diferem entre si (p<0,05).

Em relação às perdas gestacionais, não houve influência ( $p>0,05$ ) do jumento sobre as taxas de perda, perda ajustada, de parto e de parto ajustada, quando comparados os cinco jumentos, e excluindo-se o de número 2 (J2), não utilizado no experimento IIa. Assim, para os jumentos 1, 2, 3, 4 e 5 foram encontradas taxas de perda de 31,25%; 50,00%; 36,84%, 26,47% e 32,73%, respectivamente (tabela 22). A influência do reprodutor sobre a incidência de perdas gestacionais é controversa na literatura. Platt (1973) demonstrou essa correlação após os 42 dias de gestação. Chevalier-Clement (1989) avaliando ultrassonograficamente mais de 3700 éguas gestantes não observou efeito dos 261 garanhões utilizados sobre a taxa de perda gestacional, entre os dias 22 e 44 da gestação.

Mais recentemente, Allen *et al.* (2007) observaram quando de uma avaliação envolvendo 36 garanhões, que a taxa de perda embrionária, entre os dias 15 e 42, para 26 dos reprodutores utilizados, situou-se entre 0 e 12%, sendo que 10 garanhões responderam por taxas de perda embrionária acima do normal, com valores entre 13 e 26%.

O efeito da individualidade do reprodutor sobre a taxa de perda gestacional em éguas merece um maior aprofundamento científico, e pode revelar incompatibilidades cromossômicas entre os genótipos materno e paterno, como resultado de fatores como genes homozigotos letais e coeficientes elevados de endogamia (Morris e Allen, 2002).

Quando da comparação dos cinco reprodutores entre si, observa-se que o parâmetro duração da gestação diferiu ( $p<0,05$ ) entre o jumento 2 (J2) e os demais. Há que se salientar, entretanto, o reduzido número amostral do jumento 2. Jordão *et al.*

(1954), observaram influência da raça dos jumentos sobre a duração da gestação, sendo que os reprodutores da raça Brasileira responderam por uma duração da gestação superior em 11,4 dias aos da raça Italiana. No presente estudo, utilizaram-se somente jumentos da raça Pêga, não sendo possível avaliar possíveis efeitos raciais sobre o parâmetro considerado.

Na literatura, a descrição dos efeitos do garanhão sobre a duração da gestação é, ainda, conflitante. Rollins e Howell (1951) e Zwolinski (1961), demonstraram evidências de um efeito do garanhão, enquanto Detkens (1964) não observou tal efeito. A utilização do dia da ovulação, e não do último serviço, como marco inicial para quantificar a duração da gestação no estudo de Ropiha *et al.* (1969), pode ter contribuído para que a variação entre garanhões não se tornasse aparente. Este achado sugere que as observações anteriores podem ser advindas de diferenças na viabilidade espermática entre garanhões e não devido à variação individual propriamente dita.

Não se observou ( $p>0,05$ ), no presente estudo, efeito do reprodutor sobre o sexo dos produtos nascidos. Não existem relatos na literatura que demonstrem existir tal relação.

5.2.3. Efeito da categoria reprodutiva sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto.

Foram utilizados 272 ciclos, de 208 éguas divididas em quatro categorias reprodutivas: potras, éguas solteiras, paridas ou no “cio do potro”. Os resultados avaliados estão apresentados na tabela 24.

Tabela 24. Efeito da categoria reprodutiva sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto

Parâmetros Reprodutivos Avaliados	Categoria Reprodutiva das Éguas				Total
	Potra	Égua Solteira	Égua no “cio do potro”	Égua Parida	
Número de Éguas	13	83	64	48	208
Número de Ciclos	16	117	76	63	272
Taxa de concepção ao 1º ciclo (%)	61,54 (8/13) <sup>ab</sup>	48,19 (40/83) <sup>b</sup>	73,47 (39/49) <sup>a</sup>	50,79 (32/63) <sup>b</sup>	55,77 (116/208)
Taxa de concepção/ciclo (%)	62,50 (10/16)	47,01 (55/117)	59,21 (45/76)	50,79 (32/63)	52,21 (142/272)
Taxa de concepção total (%)	76,92 (10/13)	66,27 (55/83)	71,88 (46/64)	64,58 (31/48)	68,27 (142/208)
Duração da gestação (dias)	347,60± 4,57(05)	344,55± 1,84(31)	337,31± 2,55(16)	346,79± 2,34(19)	343,73± 1,26(71)
Tempo de gestação ao último controle gestacional (dias)	12,00± 12,23(03) <sup>b</sup>	44,77± 5,88(13) <sup>a</sup>	26,40± 4,74(20) <sup>ab</sup>	32,89± 7,06(09) <sup>ab</sup>	32,04± 3,36(45)
<b>Perdas gestacionais</b>					
Taxa de perda (%)	30,00 (3/10)	23,64 (13/55)	43,48 (20/46)	29,03 (9/31)	31,69 (45/142)
Taxa de perda ajustada (%)	33,33 (3/9)	24,53 (13/53)	46,51 (20/43)	29,03 (9/31)	33,09 (45/136)
Taxa de parto (%)	60,00 (6/10)	72,73 (40/55)	50,00 (23/46)	70,97 (22/31)	64,08 (91/142)
Taxa de parto ajustada (%)	66,67 (6/9)	75,47 (40/53)	53,49 (23/43)	70,97 (22/31)	66,91 (91/136)
Partos não registrados	01	02	03	0,0	06
<b>Sexo dos Produtos</b>					
Masculino (%)	50,00 (03)	43,59 (17)	30,43 (07)	59,09 (13)	44,44 (40)
Feminino (%)	50,00 (03)	56,41 (22)	69,57 (16)	40,91 (09)	55,56 (50)

<sup>a,b</sup> Médias seguidas por letras diferentes, na linha, diferem entre si (p<0,05).

No presente experimento, observou-se que as categorias reprodutivas não influenciaram (p>0,05) as taxas de concepção/ciclo, concepção total, taxa de perda e de perda ajustada. Além disso, as taxas de parto e de parto ajustada também não diferiram (p>0,05) entre as categorias avaliadas, assim como a duração da gestação e o sexo dos produtos. Entretanto, a taxa de concepção ao primeiro ciclo diferiu (p<0,05) entre éguas solteiras e paridas quando comparadas às no “cio do potro”, embora não tenham sido observadas diferenças (p>0,05) entre as éguas solteiras e paridas. A taxa de concepção de potras, ao primeiro ciclo, não diferiu (p>0,05) das demais categorias. Vale ressaltar que seis partos não foram registrados em função da morte de duas e da venda de quatro fêmeas.

Muitos autores têm demonstrado desempenho reprodutivo similar entre as diferentes categorias reprodutivas. Ferreira (1993), assim como Mattos *et al.* (1996) e Fernandes *et al.* (1995), obtiveram taxas de gestação similares entre as categorias de potras, éguas solteiras e lactantes. Entretanto, neste experimento observou-se taxa de concepção, ao primeiro ciclo, superior para as éguas no “cio do potro” em relação às solteiras e lactantes.

Sullivan *et al.* (1975) verificaram taxas de concepção de 44%, 40% e 54%, ao primeiro ciclo, para potras, éguas solteiras, e no “cio do potro”, respectivamente. Após cinco ciclos, esses valores foram de 84%, 74% e 84%, para as três categorias reprodutivas consideradas. Resultados similares foram observados por Woods *et al.* (1987), quando

obteve-se uma menor taxa ( $p < 0,05$ ) de gestação para as éguas solteiras (47%), em relação às potras (58%) e às éguas no pós-parto (56%). Verificou-se também, um menor potencial de fertilidade nas éguas vazias da estação reprodutiva anterior. Ao contrário do citado por Sullivan *et al.*, (1975), Hemberg *et al.* (2004) não observaram diferenças entre categorias reprodutivas quanto à taxa de concepção ao primeiro e segundo ciclos, taxa de concepção total e taxa de potros nascidos. A taxa de perda gestacional foi numericamente maior para as éguas solteiras (15,3%) e éguas que reabsorveram ou abortaram na estação de monta anterior (20,4%), em relação às observadas para as potras (7,8%) e éguas com “potro ao pé” (12,2%).

Segundo Waelchli (1990) e Kossin (1995) há uma importante relação entre a categoria reprodutiva e a fertilidade potencial de uma égua, sendo que a redução da fertilidade está diretamente relacionada ao número de anos consecutivos em que a mesma não conseguiu conceber. Morris e Allen (2002) apontaram potras e éguas paridas como categorias de alta fertilidade, ao contrário das éguas solteiras, que apresentaram dificuldades em conceber na estação de monta anterior. Para Von Lepel (1975), éguas vazias por uma ou mais estações reprodutivas consecutivas possuem potencial de fertilidade inferior ao de potras e éguas gestantes. Vale ressaltar que a saúde do sistema genital dessas fêmeas é de grande importância para a avaliação de seu potencial reprodutivo.

Ao trabalharem com éguas inseminadas com jumento, Ferreira (1993) observou taxas de gestação para potras, éguas solteiras e éguas com “potro ao pé”, de 81,8%, 93,7% e 81,8%, respectivamente, após considerar as perdas embrionárias. O número de ciclos por gestação para as três categorias foi de 1,2; 1,4; e 1,5, respectivamente. Para a autora, a taxa de concepção superior encontrada no grupo de éguas solteiras pode ter ocorrido em função do não aproveitamento

desses animais na estação anterior, voluntariamente, ou por terem apresentado algum problema reprodutivo transitório, sem comprometimento grave da fertilidade. O mesmo pode ser dito para as éguas desta categoria, trabalhadas no presente experimento, a julgar pelo bom desempenho reprodutivo das mesmas em relação às demais categorias (tabela 24), no que se refere às taxas de concepção/ciclo e concepção total.

O incremento da fertilidade em um rebanho equino pode ser verificado ao longo de estações de monta consecutivas, pelo aumento da proporção de éguas com potro ao pé (lactantes), em relação à categoria de éguas solteiras (Silva, 1988). No entanto, o estado lactacional pode interferir nas taxas de fertilidade, já que tem sido implicado com altos índices de perda embrionária (Merkt, 1966; Merkt e Günzel, 1979; Vanderwall e Newcombe, 2007).

Para Kenney (1978), nenhuma categoria de égua (lactante, potra ou solteira) tem sido identificada como especialmente susceptível à perda embrionária. No entanto, éguas lactantes têm incidência relativamente maior de morte embrionária quando cobertas no “cio do potro”, o que não é verificado quando a cobrição se dá nos cios subsequentes (Merkt, 1966; McKinnon *et al.* 1988; El-Wishy *et al.* 1990; Morris e Allen 2002). No presente experimento, apesar de a taxa de perda não ter sofrido influência da categoria reprodutiva ( $p > 0,05$ ), em termos de valor absoluto, verifica-se que a categoria de éguas no “cio do potro” apresentou a maior taxa de perda (43,48%) e de perda ajustada (46,51%), que, no entanto, não diferiram ( $p > 0,05$ ) das outras categorias. Consequentemente, há que se salientar as menores taxas de parto e de parto ajustadas obtidas nas éguas inseminadas no “cio do potro”, embora os valores também não tenham diferido ( $p > 0,05$ ) das outras categorias (tabela 24). A menor fertilidade observada em éguas cobertas no “cio do potro”, em relação à de estros subsequentes,

tem sido associada à incompleta eliminação de microorganismos diante de uma involução uterina incompleta e, assim, de falhas na eliminação de bactérias introduzidas no ambiente uterino durante a cópula ou inseminação artificial (McKinnon *et al.*, 1988).

Ao trabalharem com éguas cobertas por garanhões, Woods *et al.* (1987) e Duarte *et al.* (2002) não encontraram diferenças nas perdas embrionárias entre éguas cobertas no “cio do potro” ou no cio subsequente. Já Merkt, (1966); Bell e Briston (1987); Meyers *et al.* (1991); Morris e Allen (2002) e Allen *et al.* (2007) observaram maiores taxas de perda em éguas cobertas no “cio do potro”. Em estudo recente, Rabelo (2009) trabalhando com éguas da raça Mangalarga Marchador, não encontrou diferenças significativas com relação às perdas embrionárias entre éguas inseminadas no “cio do potro” ou no cio subsequente, com valores de 8,97% e 10,26%, respectivamente.

Blanchard *et al.* (2004) em um estudo retrospectivo entre os anos de 1999 a 2003 no Texas, observaram que a taxa de concepção ao primeiro ciclo, o total de ciclos por concepção, bem como a taxa de perdas gestacionais não diferiram entre éguas cobertas no primeiro cio pós-parto (72%, 1,22 e 11,6%, respectivamente) e aquelas cobertas nos cios subsequentes (76%, 1,22 e 9%). Já as perdas embrionárias foram superiores em éguas cobertas no “cio do potro”.

No presente experimento, o bom desempenho reprodutivo apresentado pela categoria de potras, percebido pelas taxas de concepção similares às demais categorias, reforça ser esta categoria de alto potencial de fertilidade, o que está de acordo com Von Lepel (1975); Oliveira *et al.* (1988) e Silva (1988). Neste sentido, taxas de gestação de 84,90% e de 81,58% para potras das raças Mangalarga e Bretão, acima de três anos de idade, foram encontradas por Oliveira *et al.* (1988). Já Mitchell e Allen (1975), ao

utilizarem potras extremamente jovens, de 12-14 meses de idade, observaram 46,32% de perdas gestacionais, o que contrasta com os dados do presente estudo, quando utilizou-se potras com  $3,23 \pm 0,78$  anos e com bom escore corporal, que apresentaram taxas de perda e de perda ajustada, de 30 e 33,33%, respectivamente.

Alguns trabalhos demonstram a necessidade de um período pós-adolescência para o completo desenvolvimento reprodutivo (Wisher e Allen, 2002), pois se observa, na espécie equina, aumento considerável do tamanho dos órgãos genitais no decorrer da adolescência (Andrade, 1986). Nishikawa (1959) e Oliveira *et al.* (1988) utilizaram na reprodução potras acima de dois e três anos de idade, respectivamente, e não observaram restrição do uso dessas jovens fêmeas na reprodução, contanto que tivessem um desenvolvimento corporal adequado.

Ainda com relação às diferenças entre as categorias, no que diz respeito à sua influência sobre a fertilidade, Mattos *et al.* (1996), obtiveram, com o uso da monta natural e da inseminação artificial com sêmen a fresco, taxas de gestação de 63,6% e 71,4%; de 52,9% e 92,8%; e de 71,7% e 79,2%, para éguas virgens, falhadas e lactantes, respectivamente. Neste estudo, encontraram diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as técnicas utilizadas, apenas na categoria de éguas falhadas. Para as éguas no “cio do potro”, a taxa de gestação também foi superior quando do uso da inseminação, em relação à monta natural (79,2% e 54,5%, respectivamente). Outros autores também obtiveram melhores resultados de fertilidade para as éguas em que utilizou-se a inseminação artificial e um melhor manejo reprodutivo veterinário, em relação àquelas não submetidas à tais procedimentos (Von Lepel, 1975; Pickett e Shiner, 1994; Morris e Allen, 2002). Possivelmente, isso possa explicar os resultados obtidos no presente estudo, quando não se observaram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre as éguas solteiras e as demais categorias reprodutivas. Vale

salientar, neste momento, que todas as éguas foram submetidas à inseminação artificial, acompanhada por boas práticas de manejo e de higiene, que podem ter amenizado possíveis problemas reprodutivos em éguas susceptíveis à infecções.

Os parâmetros duração da gestação e sexo dos produtos, não foram influenciados ( $p>0,05$ ) pela categoria reprodutiva. De acordo com a literatura, os principais fatores ambientais que influenciam o período de gestação em uma determinada raça estão relacionados à idade materna, número de partos, nutrição, sexo do potro, ano e mês da concepção, época da concepção e influência do fotoperíodo. Não existem relatos que relacionem a categoria reprodutiva da égua com o sexo do produto nascido. Neste sentido, Cameron *et al.* (1999) avaliaram a influência da ordem de parto (primíparas e múltiparas) na distribuição dos sexos dos produtos, e não observaram diferença ( $p>0,05$ ). Éguas solteiras e paridas também não diferiram ( $p>0,05$ ) na proporção de machos e fêmeas.

Para Zwolinski (1961), Ropiha *et al.* (1969) e Valera *et al.* (2006), a égua é considerada uma importante fonte de variação no que diz respeito à duração da gestação. Quanto à categoria reprodutiva poucos estudos são encontrados na literatura, sendo que alguns autores observaram períodos gestacionais mais longos para éguas primíparas em relação às múltiparas (Schermerhorn *et al.*, 1980; Pool-Anderson *et al.*, 1994), embora outros pesquisadores não tenham conseguido observar tais diferenças (Arora *et al.*, 1983; Sánchez *et al.*, 1999). Pode considerar-se que éguas primíparas, que são, geralmente, mais jovens, apresentem períodos gestacionais mais longos, uma vez que não estão anatomicamente e fisiologicamente preparadas como éguas múltiparas. Entretanto, Winter (2007) não observou diferenças na duração da gestação entre éguas Crioulas primíparas ou múltiparas, sendo as médias para estas duas categorias

de 339,5 e 334,8 dias, respectivamente. Nestes estudos, a ordem de parto das éguas influenciou a duração da gestação, principalmente, pela idade das mesmas, variável esta que pode afetar fortemente a sua duração.

5.2.4. Efeito da idade sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto.

Foram utilizados 264 ciclos de 208 éguas divididas em 4 faixas etárias: 2,5 a 6,0; 6,5 a 10,0; 10,5 a 14,0; e 14,5 a 19,0 anos de idade. Deve-se salientar que seis partos, sendo um da faixa etária de 2,5 a 6,0 anos, três do grupo de 6,5 a 10 anos, e dois do grupo de 14,5 a 19 anos de idade, não foram registrados em função da morte de duas e da venda de quatro fêmeas.

Os parâmetros reprodutivos compreendidos pela taxa de concepção ao primeiro ciclo, de concepção/ciclo e de concepção total, não diferiram ( $p>0,05$ ) entre as diferentes faixas etárias estudadas. A duração da gestação, bem como o sexo dos produtos também não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os grupos. As perdas gestacionais, verificadas através das taxas de perda, de perda ajustada, de parto e de parto ajustada também não foram influenciados ( $p>0,05$ ) pela idade das éguas (tabela 25). Entretanto, observa-se na tabela 25, um incremento numérico das taxas de perda e de perda ajustada acompanhando o processo de envelhecimento das éguas. Assim, embora as fêmeas de 2,5 a 6,0 anos de idade apresentassem taxas de perda e de perda ajustada de 25,00 e 26,32%, respectivamente, os valores subiram para 46,15 e 50% para as éguas apresentando idades entre 14,5 e 19 anos, respectivamente. Acompanhando essas perdas, observa-se, conseqüentemente, uma redução numérica das taxas de parto e de parto ajustada, no decorrer do processo de envelhecimento das éguas.

Tabela 25. Efeito da idade sobre as características reprodutivas de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga, da concepção ao parto

Parâmetros Reprodutivos Avaliados	Idade das Éguas (Anos)				
	2,5 – 6,0	6,5 – 10	10,5 – 14	14,5 – 19	Total
Número de Éguas	27	95	48	38	208
Número de Ciclos	32	129	50	53	264
Taxa de concepção ao 1º ciclo (%)	62,96 (17/27)	52,63 (50/95)	57,14 (24/42)	57,89 (22/38)	55,94 (113/202)
Taxa de concepção/ciclo (%)	62,50 (20/32)	49,61 (64/129)	56,00 (28/50)	49,06 (26/53)	52,27 (138/264)
Taxa de concepção total (%)	74,07 (20/27)	67,37 (64/95)	66,67 (32/48)	68,42 (26/38)	68,27 (142/208)
Duração da gestação (dias)	347,60± 4,57(05)	344,55± 1,84(31)	337,31± 2,55(16)	346,79± 2,34(19)	343,73± 1,26(71)
Tempo de gestação ao último controle gestacional (dias)	17,00± 10,14(05)	34,12± 5,50(17)	32,73± 6,83(11)	34,75± 6,54(12)	32,04± 3,36(45)
<b>Perdas gestacionais</b>					
Taxa de perda (%)	25,00 (5/20)	26,56 (17/64)	34,38 (11/32)	46,15 (12/26)	31,69 (45/142)
Taxa de perda ajustada (%)	26,32 (5/19)	27,87 (17/61)	34,38 (11/32)	50,00 (12/24)	33,09 (45/136)
Taxa de parto (%)	70,00 (14/20)	68,75 (44/64)	65,63 (21/32)	46,15 (12/26)	64,08 (91/142)
Taxa de parto ajustada (%)	73,68 (14/19)	72,13 (44/61)	65,63 (21/32)	50,00 (12/24)	66,91 (91/136)
Partos não registrados	01	03	0,00	02	06
<b>Sexo dos Produtos</b>					
Masculino (%)	50,00 (03)	43,59 (17)	30,43 (07)	59,09 (13)	44,44 (40)
Feminino (%)	50,00 (03)	56,41 (22)	69,57 (16)	40,91 (09)	55,56 (50)

<sup>a,b</sup> Médias acompanhadas por letras diferentes, na linha, diferem entre si (p<0,05).

Apesar disto, observou-se no presente estudo que a idade não influenciou (p>0,05) a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco diluído ou resfriado. No entanto, o efeito da idade sobre as taxas de concepção, na espécie equina, têm sido extensivamente estudado, sendo atribuídos os piores resultados aos animais com idade avançada (Jordão *et al.*, 1950; Woods *et al.*, 1987; Chevalier-Clément, 1989; Fleury *et al.*, 1989; Mattos *et al.*, 1991; Carnevale e Ginther, 1992; McDowell *et al.*, 1992; Brinsko *et al.*, 1994; Camillo *et al.*, 1997; Valle *et al.*, 1999; Morris e Allen, 2002; Buiten *et al.*, 2003).

Em éguas, a senescência está relacionada a fatores que incluem desequilíbrio endócrino (Carnevale *et al.*, 1993, 1994), desarranjo das estruturas do oócito (Hunter, 1990), alterações dos ambientes tubárico (Brinsko *et al.*, 1994; Brinsko *et al.*, 1996) e uterino (Carnevale e Ginther, 1992; LeBlanc,

2003) e alterações de conformação vulvar (Greenhoff e Kenney, 1975; Pascoe, 1979), fatores estes diretamente associados à redução da eficiência reprodutiva.

A determinação da idade a partir da qual observa-se declínio nas taxas de fertilidade, apresenta, ainda, considerável controvérsia na literatura. Assim, ao avaliarem o efeito da idade sobre a fertilidade de éguas destinadas à produção de muare, Jordão *et al.* (1954) observaram que éguas com idades entre 9 e 11 anos apresentaram as maiores taxas de concepção, ao passo que aquelas com idades entre 21 e 23 anos, responderam pelos piores resultados. Fêmeas mais jovens (entre 3 e 5 anos) apresentaram fertilidade superior à da média geral. Da mesma forma, Woods *et al.*, (1987) demonstraram que a fertilidade manteve-se estável em éguas com idades entre 2 e 13 anos, declinando a partir dos 14 anos. As taxas de gestação e de perdas gestacionais foram de 56% e 12%; de 55% e



14%; de 60% e 9%; de 51% e 14%; de 45% e 24% e de 33% e 33% para as idades de 2-5; 6-9; 10-13; 14-17; 18-21 e acima de 21 anos de idade, respectivamente. Resultados similares foram apresentados por Valle *et al.* (1999), que observaram taxas de concepção/ciclo de 62,07%; 63,64%; 52,50% e 29,41%, respectivamente, para os grupos etários de 3-6 anos, 7-10 anos, 11-14 anos e 15-19 anos.

Lucas *et al.* (1991) trabalhando com a mensuração de estrógenos em amostras fecais de éguas selvagens com idades variando de um e quatro anos, durante um período de quatro anos, observaram perda gestacional média, após os 120 dias, de 32,3%. Além disso, observaram que as perdas variaram significativamente, com a idade das fêmeas, sendo de 70% para as potras de um ano de idade, 46,3% para as de dois anos, 16,7% para as fêmeas de três anos, e de 5,6% para as de quatro anos de idade. Os autores verificaram que as taxas de perda gestacional foram maiores nas fêmeas de um e dois anos, atribuindo-se esse alto percentual à imaturidade das fêmeas púberes. As taxas declinaram substancialmente com o avançar da idade, apresentando, em éguas de 3 e 4 anos, valores similares aos observados para fêmeas equinas domésticas (5,6%).

Mattos *et al.* (1991) encontraram taxas de concepção de 44,8%; 42% e 34,3% para éguas com idade inferior à 8 anos, entre 9 e 12 anos, e acima de 13 anos, respectivamente, demonstrando-se também uma queda de fertilidade com o avançar da idade. Resultados similares foram encontrados por Morris e Allen (2002), que observaram uma menor taxa de parto para éguas com idades entre 14 a 18 anos. Já McDowell *et al.* (1992) e Barron (1995) observaram queda da fertilidade a partir dos 11 anos de idade. Em um estudo realizado por Camillo *et al.*, (1997), verificou-se que para éguas acima de 15 anos, a taxa de concepção/ciclo foi de 55,5%, inferior à de éguas de 10 a 14 anos de idade (71,2%).

Ao estudar o ângulo de inclinação e o comprimento da vulva em éguas de diferentes faixas etárias, Pascoe (1979) observou que quanto mais velha a égua, maior foi o ângulo de inclinação da vulva, que por sua vez esteve intimamente relacionado com a redução das taxas de concepção. Justificativa para tal associação se dá pela maior probabilidade de estabelecimento de endometrites acompanhando a horizontalização vulvar. Além disso, com o avançar da idade e o aumento do número de partições, o útero adquire uma posição mais crânio-ventral no abdômen, em função da perda do suporte estrutural caudal do aparelho reprodutivo e estiramento do ligamento largo. Assim, segundo LeBlanc (2003), podem ocorrer falhas na limpeza uterina, advindas da alteração do posicionamento do aparelho genital e aumento de angiopatias em vasos uterinos, o que torna as éguas de idade avançada mais susceptíveis às endometrites induzidas pós-cobrição (LeBlanc, 2003; Hurtgen, 2006).

Carnevale *et al.* (1994) verificaram que durante o processo de envelhecimento, as éguas demonstram reduzida atividade folicular, intervalos prolongados entre ovulações, reduzido número de folículos e concentrações séricas mais elevadas de FSH e LH na fase folicular de extensão anormal. Em outro estudo, Carnevale *et al.* (1997), observaram maior atividade folicular e maior diâmetro dos folículos primário e secundário no grupo de éguas jovens, em comparação às éguas mais velhas. Três éguas, de um total de nove, com idade acima de 20 anos, demonstraram ausência de crescimento folicular acima de 20 mm de diâmetro, o que não foi observado nos animais mais jovens.

No presente estudo, apenas cinco éguas tinham idade superior à 16 anos, sendo a mais velha de 19, duas de 18 e duas de 17 anos. Considerando-se um pequeno número de éguas mais velhas, e ainda o fato de que nenhuma apresentava idade superior à 20

anos, pode ter influenciado nas taxas de fertilidade similares observadas entre as faixas etárias, pois nenhuma encontrava-se no período crítico, caracterizado por interrupção definitiva da atividade reprodutiva.

Por outro lado, Garg e Manchanda (1986) observando 2000 gestações verificaram uma ocorrência máxima de abortos em éguas jovens, de 4 a 6 anos de idade, sendo a maioria das éguas cobertas por asininos, em relação às cobertas por garanhões.

Da mesma forma, como observou-se no presente experimento, Brandão (2001) também não verificou efeito ( $p < 0,05$ ) da idade sobre a fertilidade de éguas, o que contradiz a maior parte da literatura consultada. Nos dois trabalhos, o uso da inseminação artificial, com a diluição do sêmen em diluidores contendo antibióticos em sua composição, associada às boas práticas de manejo e higiene, proporcionando menor desafio ao útero de éguas susceptíveis, podem ter favorecido a fertilidade de éguas mais velhas. Para Pickett e Shiner (1994), com o uso da inseminação artificial, as taxas de concepção podem superar em 30% às obtidas com a monta natural.

Ball *et al.* (1986) e Ginther (1992) relataram que as taxas de fertilização aproximam-se dos 90% e não sofrem grande interferência da idade, sendo de 91-96% para éguas jovens e de 81-92% para as éguas de idade mais avançada. Assim, parece que a menor fertilidade observada em éguas mais velhas é oriunda de maiores taxas de perdas embrionárias e não de falhas na concepção. Segundo Ball (2000), éguas idosas são mais propensas à apresentarem perdas gestacionais que éguas jovens e, embora ocorram perdas durante a gestação avançada, a maior parte destas ocorre na gestação inicial. Diversos autores verificaram taxas de perda embrionária variando de 20 a 30% ou mais, em éguas com idade superior a 18 anos (Woods *et al.*,

1987; Vanderwall *et al.*, 1989; Carnevale e Ginther, 1992; Hemberg *et al.*, 2004; Carnevale *et al.*, 2005; Allen *et al.*, 2007).

No presente estudo, observaram-se taxas de perda gestacional ajustada, por faixa etária, de 26,32% para o grupo de 2,5 a 6 anos; 27,87% para o de 6,5 a 10; 34,38% para 10,5 a 14; e de 50,00% para éguas de 14,5 a 19 anos de idade (tabela 25). Embora as taxas não tenham diferido ( $p > 0,05$ ) entre os diferentes grupos, em termos de valor absoluto, as fêmeas com idade acima de 14,5 anos apresentaram maior taxa de perda quando comparadas às demais faixas etárias. Há que se salientar, neste momento, o efeito econômico destas perdas em uma fazenda comercial. Resultados similares foram demonstrados recentemente por Rabelo (2009), que, apesar de não ter evidenciado influência da idade sobre as taxas de perda embrionária em receptoras da raça Mangalarga Marchador, observou tendência numérica de maiores perdas para o grupo de éguas com idades entre 11 e 16 anos.

Carnevale e Ginther (1992) observaram queda da fertilidade em éguas acima de 15 anos, relacionando-a ao aumento de anormalidades no ambiente uterino que, em conjunto, explicam a taxa de gestação mais baixa associada a uma maior taxa de perda embrionária no grupo de éguas velhas (32% e 62%), em relação ao de jovens (100% e 11%). Da mesma forma, Valle *et al.*, (1999) observaram redução da fertilidade das éguas na mesma faixa etária (acima de 15 anos). Morris e Allen (2002) observaram taxa de perda gestacional em éguas acima de nove anos duas vezes maior que a apresentada por éguas entre três e oito anos de idade.

A qualidade do oócito é apontada como um dos principais fatores relacionados à maior taxa de perda em éguas de idade avançada. Carnevale e Ginther (1995) demonstraram através de estudo de aspiração folicular e transferência de oócitos, taxa de concepção de 92% para os oócitos coletados de éguas

jovens (6 a 10 anos) e de 31% para as éguas mais velhas (20 a 26 anos), demonstrando-se o efeito da idade sobre a qualidade do gameta feminino.

Clinicamente, anormalidades do endométrio têm sido consideradas um importante fator para a reduzida fertilidade de éguas mais velhas. Um grande número de estudos tem caracterizado alterações degenerativas do endométrio em função do aumento da idade da égua (Kenney, 1978; Ball, 1993; Ball, 2000; Grunert *et al.*, 2005; Hurtgen, 2006). O declínio da fertilidade com o avançar da idade tem sido frequentemente atribuído a estas alterações, que incluem endometroses, endometrites, bem como alterações vasculares. Todas as éguas utilizadas no presente trabalho foram submetidas à exame ginecológico, e quando recomendados, tratamentos uterinos foram realizados, como no caso de endometrites ou acúmulo de líquido intrauterino. Talvez isso tenha contribuído para o bom desempenho reprodutivo das éguas mais velhas, traduzido pelas taxas de concepção, perdas embrionárias e taxa de parto similares às apresentadas pelas fêmeas mais jovens.

Com relação ao presente estudo, é importante enfatizar que as altas taxas de fertilidade apresentadas pelo rebanho utilizado, independentemente da idade, podem ser resultado do acompanhamento frequente do médico veterinário, com avaliação individual de cada animal e descarte daqueles de baixa fertilidade (Von Lepel, 1975; Morris e Allen, 2002; Blanchard *et al.*, 2004). Por ter utilizado um rebanho mestiço, destinado à produção comercial de muares, com animais de baixo valor individual, os descartes são mais frequentes, e assim, retidos apenas os animais de alta fertilidade, independentemente da idade.

No presente estudo, a duração da gestação não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre as quatro faixas etárias consideradas, com períodos de  $347,60 \pm 4,57$ ,  $344,55 \pm 1,84$ ,  $337,31 \pm 2,55$  e

$346,79 \pm 2,34$  dias, para os grupos de 2,5 a 6,0, 6,5 a 10,0, 10,5 a 14,0 e 14,5 a 19 anos de idade, respectivamente, assim como observado por Jordão *et al.*, (1954). Resultados similares foram também demonstrados por Winter (2007), ao avaliar gestações de éguas da raça Crioula no Brasil, quando também não verificaram diferenças na duração da gestação entre fêmeas correspondentes a três faixas etárias: 3 a 7; 8 a 14 ou mais de 15 anos, com médias de 336,8; 334,4 e 336,6 anos, para os três grupos, respectivamente.

Ao contrário do que observou-se no presente trabalho, muitos autores relataram o efeito da idade da égua sobre o período gestacional (Vivo *et al.*, 1983; Pérez *et al.*, 1997; Kurtz Filho *et al.*, 1997; Sanchez *et al.*, 1999). Mais recentemente, Valera *et al.* (2006), observaram que a idade da égua foi um fator estatisticamente significativo, ao detectarem maiores períodos de gestação em éguas jovens em relação às mais velhas, corroborando os achados obtidos por Platt (1979).

5.2.5. Efeito do mês sobre as taxas de ovulação, concepção/ciclo e perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga.

Ao avaliar-se a eficiência reprodutiva das éguas nos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro/março, não observaram-se diferenças ( $p > 0,05$ ) quanto às taxas de concepção/ciclo entre os meses considerados, sendo de 42,86% no mês de novembro, 55,41% em dezembro, 51,92% em janeiro e 57,89% nos meses de fevereiro e março. Também não houve influência do mês da estação ( $p > 0,05$ ) sobre a incidência de ovulações. Assim, de um total de 272 ovulações, 70 ocorreram no mês de novembro, 74 em dezembro, 52 em janeiro e 76 nos meses de fevereiro/março, caracterizando uma distribuição uniforme durante a estação reprodutiva (tabela 26).

Tabela 26. Influência do mês sobre as taxas de ovulação, concepção/ciclo e de perdas gestacionais (avaliadas da concepção ao parto), de éguas inseminadas com sêmen diluído ou diluído e resfriado em contêiner especial, de cinco jumentos da raça Pêga.

Parâmetros Reprodutivos Avaliados	Mês				Total
	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro/Março	
Número de ovulações/mês	70	74	52	76	272
Taxa de concepção/ciclo/mês (%)	42,86 (30/70)	55,41 (41/74)	51,92 (27/52)	57,89 (44/76)	52,21 (142/272)
Partos não registrados	-	03	01	02	06
Perdas gestacionais/mês (%)	20,00 (6/30) <sup>b</sup>	18,42 (7/38) <sup>b</sup>	38,46 (10/26) <sup>ab</sup>	52,38 (22/42) <sup>a</sup>	33,09 (45/136)

<sup>a,b</sup> Médias acompanhadas por letras diferentes, na linha, diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

No que diz respeito à incidência de perdas gestacionais, observou-se efeito ( $p < 0,05$ ) do mês da concepção. Desta forma, a maior incidência (52,38%) foi registrada nas éguas que conceberam nos meses de fevereiro e março, meses que correspondem ao final da estação de monta no hemisfério sul, em comparação ( $p < 0,05$ ) àquelas que conceberam nos meses de novembro (20,00%) e dezembro (18,42%), início da estação de monta. Éguas que conceberam no

mês de janeiro apresentaram uma taxa de perda gestacional similar ( $p > 0,05$ ) às observadas nas éguas que conceberam nos meses de novembro, dezembro e fevereiro/março. Observa-se, ainda, na tabela 26, um aumento progressivo das taxas de perda gestacional, de gestações concebidas no transcorrer da estação de monta (gráfico 3), embora nem sempre os valores tenham diferido estatisticamente.

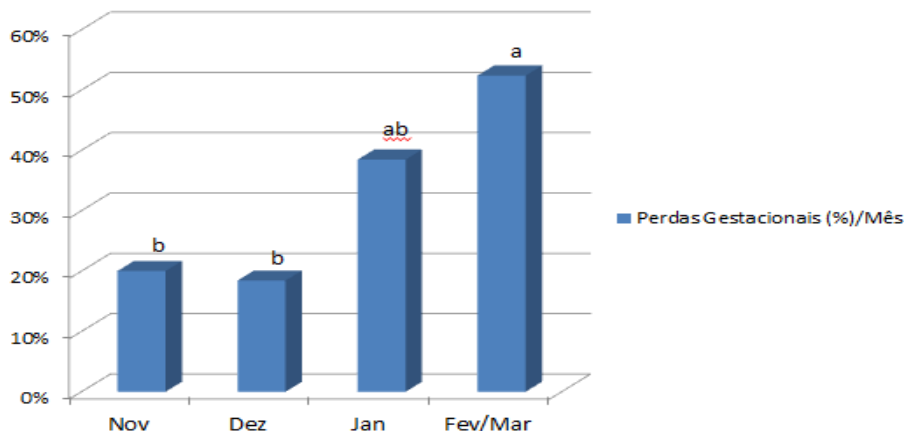


Gráfico 3. Taxa de perda gestacional em éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado, de acordo com o mês de cobrição, avaliadas da concepção ao parto.

<sup>a,b,c</sup> Médias acompanhadas por letras diferentes, diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

Taxas de concepção inferiores, durante os meses de inverno e início da primavera, foram relatadas por Van Niekerk (1967) e por Hutton e Meacham (1968). Palhares (1989) observou claramente a influência do aumento da luminosidade sobre a magnitude do intervalo do início do cio à ovulação. Os

meses de janeiro, fevereiro e março, acompanhados por elevado número de horas luz/mês foram caracterizados pelas menores médias obtidas:  $4,40 \pm 2,08$ ;  $4,99 \pm 3,50$  e  $4,98 \pm 3,26$  dias, respectivamente. Apesar da redução na duração do estro, não se observou diferenças quanto às taxas de

concepção, obtidas ao longo da estação de monta, discordando dos resultados de Trum (1950), que relacionou cios mais longos a uma pior fertilidade.

O efeito do mês de ovulação sobre a eficiência reprodutiva de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e transportado a 14°C por 3,5 horas, também foi avaliado por Valle *et al.* (2000). Assim, obteve-se uma melhor taxa de concepção, ao primeiro ciclo, em dezembro/janeiro (70,0%), acompanhada por uma maior taxa de concepção/ciclo no mesmo período (63,5%), sendo que as melhores eficiências de prenhez foram observadas em outubro/novembro e em dezembro/janeiro (4,4; 6,0), diferindo do que observou-se no presente experimento. Apesar das diferenças nas taxas de concepção, as características foliculares não diferiram entre o início, meio e fim da estação de monta.

A relação entre o tamanho do folículo à ovulação e a fertilidade foi avaliada por Valle *et al.* (2005), dentro dos três bimestres da estação de monta no Brasil, não se observando influência ( $p>0,05$ ), desta variável nos ciclos que resultaram ou não em gestações. Além disso, a fertilidade de ciclos apresentando folículos ovulatórios maiores ou menores que 40 mm foi similar ( $p>0,05$ ).

A relação entre o tempo de crescimento do folículo dominante até a ovulação também foi avaliada por Valle *et al.* (2005). Neste estudo, não se observou variação no tempo de crescimento folicular, do início do cio à ovulação, entre o primeiro, segundo e terceiro bimestres da estação de monta (5,1±1,9 dias; 6,2±4,2 dias; e 5,2±3,1 dias). Da mesma forma, o tempo de crescimento folicular não diferiu ( $p>0,05$ ) entre os ciclos que resultaram ou não em gestação. Finalmente, agrupando-se os ciclos em maiores ou menores que 6 dias, do início do cio à ovulação, não se verificou influência dos mesmos sobre a fertilidade.

Na Austrália, Osborne (1968) verificou que a atividade reprodutiva máxima ocorreu nos

meses seguintes ao solstício de verão, ou seja, janeiro e fevereiro, época considerada pela autora como de maior fertilidade devido ao maior percentual de ovulações. Nos Estados Unidos da América, Ginther (1974) observou cios ovulatórios de menor duração no meio do verão, quando comparado ao seu início e no outono. O intervalo da ovulação ao final do cio não teve efeito do mês, assim como a ocorrência de cios intermitentes durante a estação reprodutiva. No Brasil, Resende (1974) observou maior prevalência de ovulações na estação chuvosa, assim como uma maior ocorrência de ovulações múltiplas na estação seca, atribuindo a menor fertilidade da época da seca à maior ocorrência de múltiplas ovulações.

Assim como no estudo de Palhares (1987), no presente experimento, não foram realizados acasalamentos nos meses envolvendo os períodos transicionais de primavera e outono, o que pode ter colaborado para a ausência de diferenças encontradas entre os períodos avaliados. Sabe-se que o intervalo entre os meses de novembro e o início do mês de março, compreende o período de atividade ovariana plena na espécie equina, acompanhada pelas melhores taxas de concepção, no hemisfério Sul (Resende, 1974; Palhares, 1987; Valle *et al.*, 2000).

Verificou-se, no presente experimento, alto percentual de perdas gestacionais (33,09%), não sendo possível determinar o período da gestação em que as mesmas ocorreram. Estes resultados são similares aos descritos por Boeta e Zarco (2005), quando avaliaram éguas inseminadas com sêmen asinino até os 150 dias de gestação. De um modo geral, as taxas de perdas gestacionais superam aquelas descritas para éguas inseminadas com garanhões da mesma espécie, que, segundo Ginther (1992), variam de 7 a 16%, entre os dias 20 e 90 pós-ovulação. Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011) estimaram entre 7 e 15% a incidência de morte embrionária em gestações intraespécies de equinos, considerando-se,

neste caso, as perdas ocorridas até os 100 dias de gestação.

Tem sido observada grande influência da estacionalidade reprodutiva sobre a atividade ovariana de éguas, quantificada pelo tamanho ovariano, número de folículos e taxa de ovulação durante a gestação (Allen 1975b). Sendo o experimento conduzido no hemisfério norte, as éguas que conceberam entre os meses de abril e julho, apresentaram alta atividade ovariana aos 40 dias de gestação, cujo pico coincidiu com os níveis máximos de eCG circulantes. Apesar disso, a atividade ovariana foi mantida após a queda relativa das concentrações de eCG. Já nas éguas que conceberam entre julho e fevereiro, os aumentos de eCG não foram acompanhados de um incremento marcante na atividade ovariana como observado nas outras éguas. Com base nessas observações, o autor considerou que a eCG atuaria de forma sinérgica com as gonadotrofinas de origem hipofisária, sendo as últimas responsáveis pelo estímulo primário para a atividade ovariana nas éguas gestantes.

Em 1984, Allen sugeriu que o LH de origem hipofisária poderia suportar a função lútea, na ausência de eCG em éguas gestando embriões muares. Também, Boeta e Zarco (2005) postularam que éguas que concebem no início da estação de monta passam pelo primeiro trimestre da gestação em uma época do ano quando não há supressão da liberação de LH. Assim, a sua presença seria suficiente para prover um estímulo luteotrópico capaz de manter as concentrações de progesterona acima de um limiar necessário para a manutenção da gestação, em éguas gestando embriões muares. Esta proposta pode ser suportada por um estudo conduzido, anteriormente, por Snyder *et al.*, (1979), quando detectou-se maior concentração de LH na penúltima em relação à última ovulação da estação reprodutiva, enfatizando o efeito sazonal sobre as concentrações de LH. Assim, pode ser que a eCG seja um mecanismo desenvolvido para substituir o efeito

luteotrópico do LH hipofisário, quando a concepção ocorre ao final da estação ovulatória.

Nesse sentido, em estudo recente, Ariás (2011) administrou um antagonista do GnRH à éguas gestando embriões muares ou equinos. A autora observou que o número de folículos de diâmetro superior à 20 mm nas éguas cobertas por garanhões foi maior quando comparado ao observado nas éguas cobertas por jumentos, entre as semanas 6,5 a 9 da gestação ( $p < 0,05$ ). No grupo de fêmeas envolvidas em gestações equinas, a supressão do GnRH não interrompeu o desenvolvimento folicular, visto que tanto o número quanto o volume foliculares alcançaram níveis máximos durante o tratamento. No entanto, houve menor secreção de estradiol pelos folículos formados e muitos se transformaram em folículos hemorrágicos e não ovularam. Já nas éguas gestando embriões muares verificou-se uma redução gradual do número de folículos maiores que 20 mm, até chegarem ao completo desaparecimento, entre as semanas 9,5 e 12,5 da gestação.

Possivelmente, no primeiro grupo (égua x garanhão) o desenvolvimento folicular foi sustentado pela ação da eCG, já que o maior desenvolvimento e volume foliculares observados coincidiram com o pico de secreção de eCG, com redução posterior também acompanhando a queda das concentrações séricas deste hormônio. De maneira contrária, no segundo grupo (égua x jumento), deficitário na produção de eCG, verificou-se rápida e completa supressão do desenvolvimento dos folículos de diâmetro superior a 20 mm, após a administração de um antagonista do GnRH, evidenciando-se assim a importância do LH hipofisário na ausência do eCG em éguas gestando embriões híbridos, oriundos do cruzamento de éguas com jumentos. Neste estudo, nenhum aborto foi verificado entre as fêmeas gestando embriões equinos, enquanto que a taxa de perda gestacional

chegou a 62,5% (5/8) no grupo de fêmeas gestando muares.

Contrariando as afirmações de Allen (1984), estudos anteriores publicados por Moberg (1968) e Scherbarth (1980) citados por Ball (1993), relataram maior taxa de perda embrionária em concepções advindas de ovulações do início da estação de monta. Além disso, Moberg (1968) afirma que essa maior taxa de perda embrionária poderia ser decorrente dos efeitos da luminosidade e da temperatura sobre a sobrevivência embrionária. Vale salientar que os dois últimos autores trabalharam com éguas submetidas à cruzamentos intraespécies (garanhão x égua).

Tem sido apresentado pela literatura consultada o importante papel desempenhado pela eCG na manutenção da gestação equídea. Entretanto, observou-se no estudo de Boeta e Zarco (2005), que as baixas concentrações de eCG e de progesterona, verificadas em éguas gestando embriões muares não afetaram a sobrevivência embrionária, uma vez não ter havido diferenças ( $p>0,05$ ) em suas concentrações, entre éguas que levaram ou não gestações à termo. Tais achados encontram suporte nas conclusões de Allen (1984, 2001), de que a eCG não é necessária para a manutenção da gestação na égua.

Buscando confirmar tal hipótese, Acosta (2008) utilizou a égua com gestação híbrida, ou seja, cruzada com um jumento, uma fêmea sabidamente apresentando deficiência de eCG, para estudar a sua importância na manutenção da gestação em éguas concebendo ao final da estação de monta. Entretanto, a autora não encontrou diferenças ( $p>0,05$ ) quanto às perdas gestacionais em concepções ocorridas no início ou ao final da estação reprodutiva. Também não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) nas concentrações de progesterona e eCG nos dois grupos.

Entretanto, no presente experimento, observou-se efeito significativo ( $p<0,05$ ) do

mês da concepção sobre a incidência de perdas gestacionais (tabela 26). Discordância entre os achados deste trabalho com as observações de Acosta (2008), pode advir do pequeno número de animais utilizados no trabalho conduzido por ela no México, quando utilizou-se apenas 32 éguas. Pode ser que o pequeno número de animais não tenha possibilitado evidenciar as possíveis diferenças entre os grupos.

Moberg (1975) sugeriu a participação da manipulação do sêmen (inseminação artificial e congelamento) no incremento das perdas gestacionais, quando comparadas à utilização da monta natural. Já Klug *et al.* (1975), utilizando sêmen equino congelado, observaram uma taxa de perda embrionária (14,5%), similar às descritas por Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011), que variaram entre 7 e 15%.

Surpreendentemente, a maior incidência de perdas gestacionais (61,90%), no presente experimento (tabela 21), esteve associada à inseminação com sêmen a fresco diluído em leite em pó desnatado-glicose (T1), sendo a menor incidência (15,22%) à utilização do sêmen diluído no mesmo diluidor, porém resfriado (T3). As perdas gestacionais observadas para o tratamento T2 (45,45%) não diferiram ( $p>0,05$ ) das observadas para T1 (61,90%) e para T4 (31,91%), diferindo ( $p<0,05$ ) apenas das obtidas no T3 (15,22%). Os resultados obtidos para T3 e T4 também não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si. Uma análise profunda das perdas gestacionais (tabela 21), decorridas das inseminações em que utilizou-se o sêmen a fresco diluído, bem acima das observadas quando de inseminações utilizando o sêmen resfriado de jumentos, por um período de 12 horas, pareceu de imediato serem extremamente conflitantes, em virtude do estresse ao que o sêmen resfriado foi submetido.

Assim, pode ser que a maior incidência de perdas gestacionais observadas nas éguas dos tratamentos em que se utilizou o sêmen a fresco diluído, seja decorrente do efeito do

mês da concepção, uma vez que as inseminações com sêmen a fresco (T1 e T2) foram realizadas nos meses de janeiro a março de 2008, enquanto as inseminações com sêmen resfriado (T3 e T4) foram executadas no início da estação de monta, de outubro de 2007 a janeiro de 2008.

Concluiu-se que o mês da ovulação não influenciou ( $p>0,05$ ) as taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado. Entretanto, a maior frequência de perdas esteve associada à concepção nos meses finais da estação de monta, quando foram realizadas as inseminações utilizando-se sêmen diluído não resfriado, corroborando para a hipótese de que a eCG substitui a função luteotrópica exercida normalmente pelo LH em éguas que concebem no início da estação de monta. Entretanto, éguas gestando embriões híbridos, cuja função da eCG é deficiente, parecem ser mais susceptíveis à ocorrência de perdas gestacionais quando cobertas/inseminadas ao final da estação reprodutiva, quando os níveis de LH endógenos poderiam ser reduzidos gradativamente e assim responder, por menores concentrações de progesterona, insuficientes para manter as gestações. Tal proposta requer a realização de trabalhos mais refinados e envolvendo um maior número de fêmeas, incluindo dosagens de eCG, LH, progesterona e eventualmente, abate e necropsia de algumas fêmeas visando estudar a presença e qualidade dos cálices endometriais.

Não é demais enfatizar a necessidade de se estabelecer ultrasonograficamente a atividade ovariana das éguas previamente e durante as gestações até os 150 dias de idade. Finalmente, deveriam ser estabelecidos intervalos mais estreitos das

perdas, o que envolveria o acompanhamento das gestações a intervalos quinzenais, ou no mínimo, mensais até o parto.

### 5.3. Experimento III

5.3.1. Experimento IIIa: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou lactose-gema de ovo modificado (LGO), resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial

Experimento IIIb: Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (LPDG), resfriado e estocado à 5°C em contêiner especial, nas doses de 400 ou 800 x 10<sup>6</sup> espermatozoides móveis

Os dados dos experimentos IIIa e IIIb foram agrupados para as análises estatísticas (tabelas 27 e 28), visando-se estudar as perdas gestacionais das éguas utilizadas nos dois experimentos. Utilizou-se um total de 123 ciclos de 103 éguas mestiças, com idades variando de 2,5 a 18 anos, distribuídas uniformemente por idade, categoria reprodutiva e jumento, entre os tratamentos. Os parâmetros de fertilidade avaliados estão apresentados na tabela 29.

Observa-se, na tabela 29, que a idade das éguas e o número de inseminações/ciclo, não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os quatro tratamentos. Entretanto, a taxa de gestação foi influenciada ( $p<0,05$ ) pelo tratamento, sendo inferior ( $p<0,05$ ) no T2 em relação às obtidas nos demais tratamentos, que não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si.



Tabela 27. Distribuição das éguas dos experimentos IIIa e IIIb, após agrupamento, por categoria reprodutiva, entre os quatro tratamentos

Categorias Reprodutivas	Experimento IIIa		Experimento IIIb		Total
	T1	T2	T3	T4	
Potras	1	1	3	4	9
Éguas Solteiras	12	8	12	9	41
Éguas Paridas	4	5	12	15	36
Éguas no “cio do potro”	6	7	14	10	37
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>21</b>	<b>41</b>	<b>38</b>	<b>123</b>

Tabela 28. Distribuição das éguas dos experimentos IIIa e IIIb, após agrupamento, por reprodutor utilizado, entre os quatro tratamentos

Reprodutor	Experimento IIIa		Experimento IIIb		Total
	T1	T2	T3	T4	
1	5	6	8	7	26
2	3	2	6	5	16
3	9	8	15	15	47
4	3	2	7	6	18
5	3	3	5	5	16
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>21</b>	<b>41</b>	<b>38</b>	<b>123</b>

Tabela 29. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos da raça Pêga, avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 194 dias de gestação

Parâmetros Avaliados	Experimento IIIa		Experimento IIIb		Total
	T1-Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LPDG e resfriado	T2- Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LG e resfriado	T3- Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LPDG e resfriado, na dose de 400x10 <sup>6</sup> spz móveis	T4- Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LPDG e resfriado, na dose de 800x10 <sup>6</sup> spz móveis	
Número de ciclos	23	21	41	38	123
Idade das éguas	10,07±0,70	10,67±0,73	10,16±0,52	10,28±0,54	10,26±0,30
Número IA/ciclo	1,57±0,21	1,43±0,22	1,95±0,16	2,03±0,16	1,81±0,09
Taxa de gestação (%)	56,52 (13/23) <sup>a</sup>	4,76 (1/21) <sup>b</sup>	41,46 (17/41) <sup>a</sup>	47,37 (18/38) <sup>a</sup>	39,84 (49/123)
Perdas gestacionais (%)	30,77 (4/13)	100,00 (1/1)	5,88 (1/17)	5,56 (1/18)	14,29 (7/49)

<sup>a,b</sup> Médias na linha seguidas por letras diferentes, diferem entre si (p<0,05)

No que se refere às perdas gestacionais, os baixos percentuais observados nos diferentes tratamentos impossibilitaram análises estatísticas envolvendo este parâmetro. No entanto, a distribuição das perdas entre os tratamentos nos dois experimentos, está apresentada na tabela 30.

Observa-se, na tabela 29, que a idade das éguas variou de  $10,07 \pm 0,70$  à  $10,67 \pm 0,73$  anos, não diferindo ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, o que reflete a homogeneidade dos mesmos. Resultados de fertilidade satisfatórios têm sido observados em éguas com idades variando entre 2 e 13 anos, havendo um declínio a partir dos 14 anos (Woods *et al.*, 1987). Para Hutton e Meacham (1968), a fertilidade média oscilou até os 7 anos, atingiu um pico de 89,6% aos 9 anos, manteve um platô acima de 70% até os 15 anos, e declinou gradualmente após esta idade.

Em estudo conduzido por Vanderwall e Woods (1991), éguas com idades acima de 19 anos iniciaram a atividade reprodutiva sazonal duas semanas após as éguas com idade inferior aos 13 anos, reduzindo em 10% a estação reprodutiva efetiva. Além disso, observou-se que as éguas mais velhas são mais susceptíveis a falhas de ovulação. Para os autores, a fertilidade da égua começa a declinar a partir dos 12 anos. Resultados similares foram demonstrados por Waelchli (1990), que ao analisar dados de 192 éguas subfêrteis, observou uma taxa de concepção total significativamente superior para éguas com idade inferior à 11 anos (72%), em relação àquelas com idade acima dos 12 anos (47%). Para o autor, a fertilidade na espécie equina é controlada por alterações endometriais relacionadas à idade, associadas a efeitos diretos e indiretos, muitos ainda indefinidos.

Ao trabalharem com éguas destinadas à produção de muaras, Jordão *et al.* (1954) observaram maiores taxas de concepção para o grupo de fêmeas com idades entre 9 e 11 anos, quando comparadas às mais velhas,

apresentando de 21 à 23 anos. Esses resultados estão de acordo com os apresentados por McDowell *et al.* (1992) e Laing e Leech (1975), quando observou-se uma redução na taxa de potros nascidos de éguas com idade superior à 10 anos.

No presente experimento, 62,13% das éguas utilizadas encontravam-se na faixa etária entre 2,5 à 11 anos de idade, portanto, na faixa considerada potencialmente fértil pela maioria dos autores. Vale destacar que no grupo de éguas mais velhas, com idade superior à 16 anos, utilizou-se apenas três fêmeas, que responderam por um percentual de 2,91% do total de fêmeas trabalhadas.

Observa-se na tabela 29, que o número de inseminações por ciclo não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, com resultados variando de  $1,43 \pm 0,22$  à  $2,03 \pm 0,16$ . Esses resultados mostram-se inferiores aos obtidos por Silva (1988), quando registrou-se 2,68, 3,26 e 2,19 inseminações por égua, em três estações de monta consecutivas estudadas. No entanto, Palhares *et al.* (1986) obtiveram um número de 1,6 inseminações/jumenta gestante e 2,8 inseminações/jumenta vazia, ao utilizarem o sêmen a fresco diluído de jumentos.

Alguns trabalhos têm demonstrado efeito positivo de um maior número de inseminações por ciclo sobre as taxas de concepção (Burwash *et al.*, 1974; Voss *et al.*, 1979; Voss *et al.*, 1982; Pickett *et al.*, 1987; Ferreira, 1993). Segundo Ginther (1992), inseminações repetidas poderiam aumentar a disponibilidade de espermatozoides no reservatório espermático, até o momento da ovulação. No entanto, muitos autores observaram que a maior frequência de inseminações ou cobrições por ciclo, não respondeu por maiores taxas de concepção (Pickett *et al.*, 1987; Silva Filho *et al.*, 1991; Silva Filho *et al.*, 1994; Lima, 1995; Palhares, 1997; Valle, 1997; Brandão, 2001).

Ao trabalharem com sêmen resfriado de asininos, Ferreira (1993) observou uma taxa

de concepção superior (96,8%) para éguas inseminadas duas vezes em relação àquelas inseminadas uma única vez (69,9%) por ciclo. Por outro lado, Leite (1994) não observou influência da frequência de inseminações sobre as taxas de gestação obtidas, ao trabalhar com sêmen a fresco diluído de jumentos.

Corroborando os achados de Leite (1994), trabalhos que utilizaram o mesmo manejo reprodutivo adotado no presente experimento (Palhares, 1997; Valle, 1997; Brandão, 2001; Xavier, 2006), também não observaram efeito do número de inseminações sobre a fertilidade das éguas inseminadas.

O baixo número de inseminações/ciclo observado no presente experimento, pode ser atribuído à administração, em todas as éguas, de gonadotrofina coriônica humana (hCG) como agente indutor da ovulação, possibilitando a redução da duração do estro e, conseqüentemente, do número de inseminações/ciclo. Há que se ressaltar o rigoroso programa de controle folicular implantado, com palpções transretais e controle ultrassonográfico associado.

Para Pickett *et al.* (1987), o excessivo número de inseminações/ciclo responde, muitas vezes, por piores resultados de fertilidade em equinos, sendo considerada como causa a maior veiculação de contaminantes ao útero. Para possibilitar a redução do número de inseminações artificiais, de modo a alcançar máxima eficiência reprodutiva, é necessário associar, de forma correta, a frequência de inseminações, a concentração espermática (Pickett *et al.* 1987), e o intervalo da inseminação à ovulação (Woods *et al.* 1990).

Ao avaliar-se as taxas de gestação obtidas (tabela 29), vale ressaltar a superioridade ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos envolvendo o

diluidor LPDG, em relação ao utilizando o diluidor LGO modificado, que apresentou taxa uma de gestação de apenas 4,76% (T2), contra os valores de 56,52%, 41,46% e 47,37%, observados nos tratamentos T1, T3 e T4, respectivamente.

A expansão da inseminação artificial nos animais de produção foi intimamente associada à descoberta de diluidores, que melhoram e mantêm a qualidade do sêmen (Berliner, 1942). Desde então, diferentes diluidores vem sendo testados em diversos estudos, com resultados bastante variáveis. Assim como no presente estudo, Palmer (1984) obteve melhores resultados de fertilidade ao inseminar éguas com sêmen de garanhões diluído em diluidor à base de leite, em relação aos obtidos quando da utilização de um diluidor à base de gema de ovo. Já Carvalho (1992), não observou diferenças quando da comparação das taxas de concepção obtidas com sêmen equino a fresco, diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose ou lactose-gema de ovo e transportado a 15-20°C. Da mesma forma, Silva Filho *et al.* (1994) não registrou diferenças ao utilizar diluidores à base das duas macromoléculas, quanto aos resultados de fertilidade resultantes.

Comparando-se os resultados obtidos no presente experimento com os de outros estudos envolvendo diluidores à base de leite, observa-se que o sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (LPDG), e armazenado à 5°C (T1, T3 e T4), resultou em taxas de concepção similares às obtidas por Leite (1994); Boeta e Zarco (2000); Rossi (2008) e Diaz *et al.* (2009); superiores às taxas obtidas por Rozas (2005) e Vidament *et al.* (2008); porém inferiores às obtidas por Boeta e Zarco (2000), quando utilizaram o sêmen diluído em diluidor de leite desnatado e pasteurizado, resfriado à 5°C.

Tabela 30. Distribuição das perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos da raça Pêga, avaliadas à diferentes períodos ao longo da gestação (13,57±0,15 a 167,04±1,73 dias)

Dias	n	Experimento IIIa-Éguas Inseminadas com Sêmen Fracionado, Diluído em										Experimento IIIb-Éguas Inseminadas com Sêmen Fracionado, Diluído em					Total de ciclos						
		Diluidor LPDG (T1) ou LGO Resfriado					Diluidor LGO (T2)					Diluidor LPDG 400 (T3) móveis e resfriado						Diluidor LPDG 800 (T4)					
Avaliação ultrassonográfica de éguas por intervalo de tempo		Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais	Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais	Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais	Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais	Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais		
0-15	90	12	8	3	..	1	19	1	..	8	16	17	..	12	14	12	..	12	14	12	..	123	
(13,57±0,15)																							
16-30	55	8	2	5	..	0	1	0	1	15	8	1	1	13	6	5	..	13	6	5	..	66	
(23,26±0,66)																							
31-40	21	6	..	7	..	0	..	0	..	8	..	8	..	7	..	11	..	7	..	11	..	47	
(34,05±0,67)																							
46-59	13	0	..	13	..	0	..	0	..	5	..	11	..	8	..	10	..	8	..	10	..	47	
(54,31±1,04)																							
66-88	28	9	..	0	4	0	..	0	..	8	..	8	..	6	..	11	..	6	..	11	..	47	
(78,21±1,15)																							
90-120	28	3	..	6	..	0	..	0	..	13	..	3	..	12	..	5	..	12	..	5	..	42	
(106,93±1,65)																							
123-150	32	7	..	2	..	0	..	0	..	13	..	3	..	12	..	5	..	12	..	5	..	42	
(136,81±1,45)																							
153-194	28	9	..	0	..	0	..	0	..	9	..	7	..	10	..	7	..	10	..	7	..	42	
(167,04±1,73)																							
<b>Total</b>	..	13	10	..	4	1	20	..	1	17	24	..	1	18	20	..	1	18	20	..	1	14,29 (7/49)	

O efeito de dois diferentes diluidores, à base de leite em pó desnatado-glicose ou glicina-gema de ovo, sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco diluído, ou diluído e resfriado à 5°C, por 12 horas, foi avaliado por Rossi (2008), quando obteve-se taxas de concepção/ciclo de 64% e 55%, e de 51% e 49%, respectivamente. A autora não observou ( $p>0,05$ ) influência do diluidor sobre as taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído ou diluído e resfriado, divergindo do encontrado no presente trabalho. No presente experimento, embora tenha havido similaridade nas taxas de gestação das éguas inseminadas com sêmen diluído no diluidor LPDG, em relação ao trabalho de Rossi (2008), resultados desastrosos foram obtidos quando da utilização do diluidor LGO, apresentando 20% de gema de ovo em sua constituição.

Na mesma linha de pesquisa, Boeta e Zarco (2000), trabalhando com sêmen asinino diluído em diluidor a base de leite, e resfriado por até 48 horas, obtiveram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, variando de 54,5% a 76,5%. Vidament *et al.* (2008), também utilizando o diluidor a base de leite para o resfriamento do sêmen asinino por até 8 horas, obteve, em jumentas e éguas, taxa de concepção de 45%.

Ao trabalhar com sêmen asinino diluído em diluidor à base de leite desnatado, Rozas (2005) inseminou jumentas e obteve taxas de concepção por ciclo de 25,66% e 47,36%, durante duas estações de monta consecutivas. Leite (1994) e Diaz *et al.* (2009), registraram taxas de concepção similares à obtida no presente experimento, de 53,12% e 53,80%, respectivamente, ao inseminar éguas com sêmen asinino a fresco, também utilizando diluidor à base de leite.

Ao avaliar os resultados encontrados no experimento II da presente dissertação, observa-se uma superioridade das taxas de gestação em relação às encontradas no experimento III. As taxas de concepção

totais para os tratamentos envolvendo o sêmen a fresco diluído nos diluidores LPDG e GGO, foram de 67,74% e 66,67%. Para o sêmen resfriado, utilizando os mesmos diluidores, foram de 71,01% e 66,67%. Vale ressaltar, neste momento, os bons resultados advindos dos tratamentos envolvendo o diluidor glicina-gema de ovo, destoando da desastrosa taxa de gestação obtida no presente experimento, de 4,76% (1/21), quando do uso do diluidor de lactose-gema de ovo modificado. É importante lembrar que a única gestação resultante deste tratamento envolvendo o diluidor LGO foi perdida entre os dias 16 e 30 pós-ovulação.

Phillips (1939) foi pioneiro ao relatar o uso da gema de ovo como componente de diluidores para o sêmen de touros. Ainda em 1939, Lardy e Phillips citaram seu uso como componente de diluidor seminal para equinos. Berliner (1942), baseando-se nos dois trabalhos anteriores, utilizou a gema de ovo para diluidores seminais de jumentos e garanhões na rotina de uma central de reprodução equídea nos Estados Unidos.

Desde então muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos, bem como citações da utilização na rotina da reprodução equídea, da gema de ovo como constituinte de diluidores para o sêmen resfriado ou congelado de garanhões (Nagase *et al.*, 1966; Martin *et al.*, 1979; Cochran *et al.*, 1984; Papa, 1987; Silva Filho *et al.*, 1987; Carvalho, 1992; Klug, 1992; Carvalho *et al.*, 1994), bem como para o sêmen de jumentos (Vieira *et al.*, 1985; Piao *et al.*, 1988; Arruda *et al.*, 1989; Santos, 1994; Silva, 1995; Papa *et al.*, 1999; Melo *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2006; Vidament *et al.*, 2008).

Em 1987, Silva Filho *et al.* modificaram o diluidor à base de lactose e gema de ovo preconizado por Nagase e Graham (1964), para ser utilizado no sêmen de bovinos. Após a retirada do glicerol, utilizaram-no como diluidor de sêmen de equinos para inseminação com sêmen a fresco diluído ou diluído e transportado. O diluidor vem sendo

utilizado no Brasil e tem respondido por resultados de fertilidade equiparáveis ou superiores aos obtidos com o diluidor de Mínima Contaminação (Kenney *et al.*, 1983), a base de leite em pó desnatado-glicose (Carvalho, 1992; Silva Filho *et al.*, 1997; Silva Filho *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 2000).

Assim como no estudo de Rossi (2008), diluidores a base de gema de ovo foram utilizados com sucesso para a diluição do sêmen de asininos. Em um trabalho envolvendo 240 éguas, inseminadas com sêmen a fresco diluído em diluidor lactose-gema de ovo, Silva (1988), obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 52,4%, 52,2% e 68,5%, durante três estações de monta consecutivas. Ao utilizarem o mesmo diluidor, porém inseminando jumentas, Palhares *et al.* (1986) obtiveram uma taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 57%. Já Ferreira (1993), também utilizando o sêmen diluído em diluidor lactose-gema de ovo, porém resfriado, obteve uma taxa de concepção/ciclo média de 82,70%. Reafirmando esses resultados, no Experimento II da presente dissertação, as taxas de concepção, ao primeiro ciclo, alcançadas com o sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor glicina-gema de ovo, registraram valores de 61,11% e 54,17%, respectivamente, que não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si. Vale salientar que, apesar do uso de um diluidor com o mesmo percentual de gema de ovo, no presente experimento utilizou-se o sêmen fracionado, oriundo da coleta dos três primeiros jatos do ejaculado (fração rica), diferentemente dos trabalhos de Rossi (2008); Silva (1988); Palhares *et al.* (1986); Ferreira (1993) bem como no Experimento II deste trabalho, que utilizaram o ejaculado total de asininos.

A inclusão de gema de ovo nos diluidores de sêmen de equídeos, tem apresentado resultados diversos, o que pode se justificar pelas diferenças observadas na composição do diluidor utilizado, bem como no percentual de gema de ovo adicionada.

Neste sentido, Heitland *et al.* (1995) obtiveram uma taxa de recuperação embrionária aceitável em éguas inseminadas com sêmen resfriado de garanhões, diluído em diluidor à base de leite, acrescido de 4% de gema de ovo. Jasko *et al.* (1992), trabalhando com sêmen de garanhões diluído, centrifugado para a retirada do plasma seminal e resfriado, observaram aumento da motilidade total e progressiva quando o sêmen foi diluído em diluidor à base de leite acrescido de 4, 8 ou 16% de gema de ovo, em relação ao sêmen diluído em diluidor sem essa macromolécula (gema de ovo). No mesmo sentido, Bedford *et al.* (1995) também observaram um efeito positivo quando da adição de 4% de gema de ovo ao diluidor à base de leite, na avaliação *in vitro* do sêmen resfriado. Porém, no teste *in vivo*, o autor obteve uma taxa de recuperação embrionária de 17% no grupo submetido à inseminação com sêmen diluído no diluidor acrescido de gema de ovo, contra 50% nas fêmeas inseminadas com sêmen diluído no diluidor livre da gema.

Depreende-se do trabalho apresentado por Bedford *et al.* (1995) e dos resultados do presente experimento, que houve um prejuízo considerável quanto à fertilidade das fêmeas inseminadas com o diluidor de lactose-gema de ovo. Além disso, considerando-se os demais trabalhos, que utilizaram o diluidor com sucesso, sem qualquer efeito sobre as taxas de concepção, parece ter havido uma interação entre a remoção do plasma seminal e a presença dos componentes da gema de ovo nos diluidores seminais, que associados, acarretaram sérios prejuízos à fertilidade.

Em estudo recente, Jepsen *et al.* (2010), observaram que uma alta concentração de gema de ovo, no diluidor de congelamento do sêmen de asininos, afetou negativamente a fertilidade de éguas inseminadas. Assim, relataram uma taxa de concepção de 0% quando o sêmen foi congelado em diluidor contendo 20% de gema de ovo, incluindo

glicerol como crioprotetor. A substituição do glicerol pelo etilenoglicol, ainda na presença de 20% de gema de ovo, resultou em uma taxa de concepção de 6,3%, contra 46,5% quando as fêmeas foram inseminadas com o sêmen congelado, porém na presença de 5% de gema de ovo. Diante desses resultados não se deve atribuir a taxa de concepção nula unicamente à utilização do glicerol, mas também à concentração de gema de ovo presente no diluidor seminal. Ainda, os autores obtiveram uma taxa de concepção de 58,3% com a adição de ciclodextrina ao diluidor de congelamento, contendo 20% de gema de ovo em sua constituição, de forma a neutralizar o efeito negativo da alta concentração desta macromolécula. A capacidade das ciclodextrinas em se ligarem aos lipídios, principalmente ao colesterol, sugere que este pode ser o componente da gema de ovo responsável pelo decréscimo da fertilidade em asininos.

Resultados similares aos de Jepsen *et al.* (2010) foram demonstrados por Sales (2011), quando obteve-se uma taxa de gestação de 0% (0/18), ao inseminar éguas com sêmen asinino congelado, diluído em diluidor de lactose-gema de ovo (20% de gema), coletado de forma fracionada, como no presente experimento. Vale salientar, ainda, a presença de 3,5% de glicerol no diluidor utilizado por Sales (2011).

No entanto, nos estudos conduzidos por Ferreira (1993); Silva (1988) e Rossi (2008) a presença de 20% de gema de ovo nos diluidores utilizados, não resultou em baixas taxas de fertilidade. Talvez a presença do plasma seminal tenha contribuído para esses resultados, considerando-se ter sido este o diferencial no presente experimento, no trabalho conduzido por Sales (2011), que também utilizou a coleta fracionada, e no trabalho de Jepsen (2010), que submeteu o sêmen ao processo de centrifugação, antes do congelamento. Desta forma, demonstrou-se a inviabilidade da associação da remoção do plasma seminal, seja por coleta fracionada ou centrifugação, e a utilização

de um diluidor apresentando grande percentual de gema de ovo em sua constituição, como no presente experimento, quando utilizou-se o diluidor LGO, com 20% da macromolécula em sua formulação.

De maneira contrária, a julgar pelos resultados obtidos nos experimentos II e III da presente dissertação, ao utilizar-se o diluidor LPDG, não se observou efeito negativo da remoção do plasma seminal sobre a fertilidade de éguas inseminadas, uma vez que as taxas de gestação obtidas assemelham-se às registradas por Boeta e Zarco (2000) e Rossi (2008). Conclui-se, portanto, que o sêmen fracionado de asininos, diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose, e resfriado a 5°C, pode ser armazenado por períodos de até 24 horas, sem acarretar prejuízos à fertilidade das éguas inseminadas. É importante destacar que esse período de armazenamento permite o transporte do sêmen, por via aérea ou terrestre, para qualquer localidade do país.

Como pode ser observado nas tabelas 29 e 30, o baixo percentual de perdas gestacionais impediu que fossem realizadas as análises estatísticas pertinentes. Observa-se que em todo o experimento III, 14,29% (7/49) das éguas sofreram perdas gestacionais, que se encontram distribuídas por tratamento e intervalo de tempo, na tabela 30.

Segundo Ginther (1992), a morte embrionária é definida como a perda que ocorre da fertilização até os 40 dias de gestação, o que corresponde ao momento de transição do estágio embrionário para o estágio fetal de desenvolvimento do concepto. Logo, as perdas ocorridas a partir daí seriam classificadas como morte fetal ou aborto. Neste sentido, observa-se na tabela 30, que de um total de sete perdas gestacionais, 5 ocorreram entre os dias 66 e 88 de gestação, sendo consideradas portanto, como morte fetal, enquanto duas ocorreram

entre os dias 16 a 30 pós-ovulação, sendo assim classificadas como morte embrionária.

De uma maneira geral, a taxa de perda gestacional observada no presente experimento, aproxima-se dos resultados obtidos por Nishikawa (1959); Klug *et al.* (1975); Ginther (1992) e Papa *et al.* (1998) sendo, entretanto, inferior às obtidas por Jordão *et al.* (1954); Boeta e Zarco (2005), Canisso (2008) e Vanderwall (2011). Por outro lado, os dados observados no presente experimento superam os apresentados por Garg e Manchanda (1986) e Ferreira (1993), no que se refere às perdas gestacionais.

Ao trabalhar com éguas inseminadas com sêmen de garanhões, Ginther (1992) registrou uma taxa de perda gestacional entre os dias 20 e 90 de gestação, variando de 7 a 16%, enquanto Papa *et al.* (1998) observaram 13,8% de morte embrionária, quando de um acompanhamento gestacional que se estendeu até os 30 dias pós-ovulação.

O efeito do sêmen congelado de garanhões sobre a incidência de perdas gestacionais, foi avaliado por Klug *et al.* (1975). Neste experimento, obteve-se uma taxa de perda embrionária de 14,5%, sem que se observasse qualquer efeito da manipulação do sêmen sobre a perda do conceito. Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011) estimaram entre 7 e 15% a incidência de morte embrionária em gestações intraespécies de equinos, considerando-se, neste caso, as perdas ocorridas até os 100 dias de gestação.

Vale salientar, neste momento, que as maiores taxas de perda gestacional têm sido descritas para éguas inseminadas ou cobertas por reprodutores asininos. Assim, Jordão *et al.* (1954) obtiveram uma taxa de parto de apenas 35,9% em éguas mantidas sob regime de monta a pasto com jumentos, ao longo de 14 estações de monta consecutivas. Garg e Manchanda (1986) observaram uma taxa de aborto de 10,4% em éguas cobertas com jumentos, frequência superior à

observada para as cobrições que envolveram garanhões, de 7,8%.

Ao compararem a incidência de morte embrionária ou fetal entre gestações resultantes de cruzamentos intra ou interespécies, Boeta e Zarco (2005) descreveram taxas de 21,4% (6/28) e 36,8% (7/19), respectivamente, quando acompanharam as éguas até os 150 dias de gestação. Neste estudo, os autores observaram que todas as perdas ocorridas nas éguas inseminadas com jumentos se deram no período fetal, sendo o período médio de ocorrência de 93 dias de gestação. Entretanto, no grupo de fêmeas inseminadas com sêmen de garanhões, constatou-se que metade das perdas ocorridas se deram no período embrionário e a outra metade no período fetal.

Em estudo recente, Canisso (2008) inseminou éguas com sêmen congelado de jumentos da raça Pêga e obteve taxas de perdas embrionárias, entre os dias 13 e 25, e entre os dias 25 e 35 da gestação, de 18,75% e 61,53% para o diluidor de Nagase e Graham (1964) modificado, e de 6,67% e 78,57% para o diluidor de Martin *et al.* (1979), as quais não diferiram ( $p>0,05$ ) entre si.

Por outro lado, Ferreira (1993), trabalhando com sêmen resfriado de um reprodutor asinino, obteve taxa de perda gestacional, entre 30 e 50 dias da gestação, de 5,5%. De maneira similar, Rossi (2008) obteve taxa de perda gestacional total de 8,51%, em acompanhamentos que perduraram até o final da estação de monta. Ressaltam-se os diferentes períodos de acompanhamento da gestação entre os trabalhos, que podem responder pela variabilidade dos resultados obtidos.

Quando avaliou-se as taxas de parto das éguas utilizadas no trabalho conduzido por Rossi (2008) apresentadas no Experimento II da presente dissertação, observou-se uma taxa de perda gestacional de 33,09%, valor similar ao demonstrado por Boeta e Zarco



(2005), e muito superior aos 8,51% apresentados inicialmente por Rossi (2008) envolvendo o acompanhamento gestacional realizado até o final da estação de monta. O presente experimento realizou o acompanhamento das fêmeas por um período mínimo de 120 dias e máximo de 194 dias de gestação, não sendo possível determinar futuras perdas, em períodos mais tardios da gestação. Não há relatos na literatura envolvendo o acompanhamento de toda a gestação de éguas gestando embriões muares, o que tem impossibilitado determinar a existência de um período crítico de ocorrência das perdas nessas fêmeas, e em caso positivo, qual seria esse período.

Associando-se os resultados obtidos por Jordão *et al.* (1954), Ferreira (1993), Boeta e Zarco (2005) e Rossi (2008), aos apresentados nos experimentos II e III da presente dissertação, pode-se propor que éguas gestantes a partir de cruzamentos com jumentos, talvez apresentem perdas gestacionais predominantemente mais tardias, ou seja, em períodos mais avançados da gestação.

Neste sentido, estudos envolvendo a transferência de embriões e cruzamentos intra e interespecies de equídeos, demonstraram que o genótipo fetal e o ambiente uterino exercem forte influência no desenvolvimento dos cálices endometriais e, conseqüentemente, na secreção da gonadotrofina coriônica equina (eCG). Nestes experimentos, avaliou-se o tamanho dos cálices, o seu desenvolvimento, além da capacidade invasora das células que o constituem no endométrio materno (Allen, 1969; 1975; 1982a; Allen *et al.*, 1987, 1993).

Assim, diversos estudos foram conduzidos no sentido de mensurar as concentrações de eCG e de progestágenos nas gestações inter e intraespecies de espécies do gênero *Equus*. Em gestações de bardotos (cavalo x jumenta), observou-se concentrações de

eCG e progestágenos bem superiores às observadas em gestações intraespecies de embriões asininos (jumento x jumenta), o mesmo podendo ser dito quanto às gestações equinas (cavalo x égua). Entretanto, as menores concentrações de eCG foram oriundas de gestações envolvendo embriões muares (jumento x égua) (Bielanski *et al.*, 1956; Clegg *et al.*, 1962; Allen, 1969), apesar de não terem sido afetadas as concentrações de progestágenos (Allen, 1975).

Ao inseminar éguas com sêmen de jumentos ou garanhões, Boeta e Zarco (2005) detectaram menores concentrações ( $p < 0,05$ ) de eCG nas primeiras em relação às cobertas com garanhões, sendo que as concentrações atingiram níveis basais precocemente nas éguas gestando embriões muares, oriundos de cruzamentos interespecies com jumentos. As concentrações de progesterona não aumentaram entre os dias 35 e 49 da gestação, como observado no grupo de éguas gestando embriões equinos. Em estudo recente, Acosta (2008) observou que diante de baixas concentrações de eCG, houve a formação de corpos lúteos secundários mais tardiamente e em menor número. Entretanto, os autores não observaram diferenças nas concentrações de eCG e progesterona entre as fêmeas que perderam seus embriões e aquelas que não apresentaram perdas. Observaram, ainda, desenvolvimento normal da vesícula embrionária, sugerindo que as menores concentrações hormonais não afetaram a sobrevivência nem o desenvolvimento do concepto.

Sabe-se que as respostas imunológicas da mãe contra os antígenos fetais expressos pelo Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC) são exacerbadas em éguas que gestam embriões muares (Benirschke, 1965) o que pode comprometer a placenta e conseqüentemente, o concepto.

Recentemente, Boeta e Zarco (2010) monitoraram e compararam as

concentrações plasmáticas de eCG, progesterona e sulfato de estrona, em gestações normais e nas interrompidas por perda embrionária ou fetal, em éguas inseminadas com sêmen de garanhões ou de jumentos. Os resultados demonstraram maior incidência de abortos nas éguas inseminadas com jumentos, com valores de 30%, contra apenas 5% nas éguas inseminadas com sêmen de garanhões. Entre os dias 56 e 120 da gestação, as concentrações plasmáticas de progesterona foram menores nas éguas servidas por jumentos. O mesmo comportamento foi observado a partir da 6ª semana de gestação, quanto aos valores de eCG. Finalmente, as concentrações de sulfato de estrona somente diferiram entre os dois grupos nas semanas 13 e 14 da gestação, sendo os maiores valores associados às éguas cobertas por reprodutores asininos. A incidência de morte embrionária foi similar entre as éguas cobertas por jumentos (6,2%) ou cavalos (9,1%), período em que as concentrações de progesterona apresentaram padrão similar entre os dois grupos. Entretanto, no que se refere às perdas fetais, foram superiores

( $p < 0,05$ ) nas fêmeas cobertas por jumentos. Dentre as éguas que abortaram embriões muares, a insuficiência lútea secundária à deficiência de eCG foi a principal causa. Resultados similares foram observados por Rossi (2008) quando acompanhou-se a gestação somente até o final da estação de monta, e após o parto, cujos dados estão apresentados no Experimento II da presente dissertação. Observa-se que as taxas de perdas gestacionais totais foram de 8,51% e de 33,09%, respectivamente, sugerindo fortemente que éguas gestando embriões muares talvez apresentem perdas gestacionais mais tardias, no período fetal da gestação.

A tabela 31 apresenta a distribuição das éguas por mês de ocorrência das ovulações, envolvendo os quatro tratamentos do experimento III. Enfatiza-se que o experimento IIIa foi realizado nos meses de outubro e novembro, havendo por isso ausência de ovulações em dezembro. O mesmo pode ser dito para o experimento IIIb, que ocorreu nos meses de novembro e dezembro, o que justifica a ausência de ovulações no mês de outubro.

Tabela 31. Distribuição das éguas por mês de ocorrência das ovulações entre os tratamentos do experimento III

Mês da Ovulação	Experimento IIIa		Experimento IIIb		Total
	T1-Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LPDG e resfriado	T2-Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LGO e resfriado	T3-Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LPDG na dose de $400 \times 10^6$ sptz móveis e resfriado	T4-Éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído em LPDG na dose de $800 \times 10^6$ sptz móveis e resfriado	
Outubro	18	17	0	0	35
Novembro	5	4	19	20	48
Dezembro	0	0	22	18	40
Total	23	21	41	38	123

Observa-se na tabela 32 as taxas de gestação e de perdas gestacionais obtidas por mês de ocorrência da ovulação (outubro, novembro e dezembro). Os dados dos experimentos IIIa e IIIb foram agrupados visando-se avaliar todas as perdas gestacionais. Novamente, o baixo número de perdas gestacionais impediu a realização das

análises estatísticas, impossibilitando que se fizesse uma comparação mês a mês.

As taxas de concepção não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os meses de outubro, novembro e dezembro, como apresentado na tabela 32. Resultados similares foram demonstrados por Palhares (1997) e Brandão (2001).

Tabela 32. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 194 dias de gestação, considerando-se o mês de ocorrência da ovulação

Mês da Ovulação	Taxa de Gestação (%)	Perdas Gestacionais (%)
Outubro	28,57 (10/35)	30,00 (3/10)
Novembro	43,75 (21/48)	14,29 (3/21)
Dezembro	45,00 (18/40)	5,56 (1/18)
Total	39,84 (49/123)	14,29 (7/49)

A variação da atividade ovariana da égua durante os meses do ano está diretamente relacionada ao período de maior luminosidade, com maior atividade ovariana das éguas entre os meses de outubro a abril (Osborne, 1968; Ginther, 1974; Resende 1974; Saltiel *et al.*, 1982; Palhares, 1989; Pimentel *et al.*, 1991; Valle *et al.*, 2000).

Estudando os meses da estação de monta, Palhares (1989) observou que o intervalo entre o parto e a primeira ovulação, o intervalo do início do cio à ovulação, o diâmetro do folículo à ovulação, bem como a incidência de atresia folicular, foram menores nos meses de janeiro, fevereiro e março, que correspondem aos meses de maior luminosidade da estação de monta.

Em estudo posterior, a autora avaliou a fertilidade de éguas inseminadas em diferentes períodos da estação de monta, não tendo observado diferença na taxa de concepção, ao primeiro ciclo, e concepção/ciclo, entre os meses de outubro/novembro, dezembro/janeiro e fevereiro/março (Palhares, 1997). Resultados similares foram demonstrados por Brandão *et al.* (2001) ao estudar o efeito do mês da ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco

diluído. As taxas de concepção, ao primeiro ciclo, para as éguas inseminadas nos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro/março, foram de 61,11% (11/18); 84,21% (16/19); 55,56% (5/9); 53,85% (7/13), respectivamente, sem que houvesse diferenças entre as mesmas ( $p>0,05$ ). Entretanto, foi observada uma menor eficiência de prenhez nos meses de fevereiro/março, que foram agrupados. Para o autor, o mês de março respondeu pela menor fertilidade das fêmeas.

Baixas taxas de concepção durante os meses de inverno e início da primavera foram relatadas por Van Niekerk (1967) e por Hutton e Meacham (1968). Valle *et al.* (2000) avaliaram o efeito do mês de ovulação sobre a eficiência reprodutiva de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e transportado a 14°C por 3,5 horas. Assim, obteve-se uma melhor taxa de concepção, ao primeiro ciclo, em dezembro/janeiro (70,0%), acompanhada por uma maior taxa de concepção/ciclo no mesmo período (63,5%), sendo que as melhores eficiências de prenhez foram observadas em outubro/novembro e em dezembro/janeiro (4,4; 6,0). Apesar das diferenças nas taxas de concepção, as

características foliculares não diferiram entre o início, meio e fim da estação de monta.

Durante a estação de monta, há variações quanto à atividade reprodutiva das fêmeas, capazes de provocar mudanças na eficiência reprodutiva das mesmas (Valle *et al.*, 2000). Ainda há que se considerar o reprodutor como importante fonte de variação. Segundo Pickett *et al.* (1975), o sêmen sofre variações físicas ao longo do ano.

#### **5.4. Experimento IV: Fertilidade e perdas gestacionais de éguas submetidas à monta natural controlada, utilizando-se reprodutores asininos ou equinos.**

Neste experimento, foram utilizados 74 ciclos, de 59 éguas mestiças, com idades variando entre 2 e 20 anos, distribuídas em quatro categorias reprodutivas, a saber: potras, éguas solteiras, paridas ou no “cio do potro”. Ainda, as fêmeas foram distribuídas segundo a idade e o reprodutor utilizado, entre os tratamentos. Na tabela 33, estão apresentados os parâmetros de controle e de resultados dos tratamentos 1 e 2.

Além disso, observa-se nesta tabela, que os parâmetros de controle, idade das éguas e número de cobrições/ciclo não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos. Da mesma forma, a taxa de gestação e o intervalo médio da ovulação à perda gestacional também não diferiram ( $p>0,05$ ). Entretanto, as perdas gestacionais, foram influenciadas ( $p<0,05$ ) pelos tratamentos, havendo um maior percentual de perdas associadas aos cruzamentos intraespécies (cavalo x égua).

Vale salientar que a idade das éguas variou de  $11,36\pm 0,70$  a  $11,82\pm 0,43$ , e o número de cobrições por ciclo de  $2,11\pm 0,19$  a  $2,32\pm 0,20$ , o que reflete a homogeneidade entre os tratamentos.

As taxas de concepção não diferiram ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos, quando se utilizou a monta natural com garanhões (T1)

ou com jumentos (T2), sendo de 73,68% (28/38) e 77,78% (28/36), respectivamente. Os resultados do presente experimento apresentaram-se similares aos obtidos por Hughes e Loy (1970); Moberg (1975); Nishikawa (1975) e Voss e Pickett (1976), que também utilizaram a monta natural. No entanto, são superiores aos obtidos por Jordão e Gouveia (1950); Jordão *et al.* (1954); Moberg (1975); Mattos e Cavalheiro (1988); Darenius (1992) e Diaz *et al.* (2009).

Taxas de concepção variando de 25% a 76% têm sido citados para a monta natural (Ginther, 1979; Allen, 1981; Belling, 1984) e de 25,2% a 85,7% para a inseminação artificial em equinos (Zivotkov, 1941; Cheng, 1965; Martin, 1981). As taxas variam de acordo com as condições da propriedade, estado nutricional dos animais, método de cobrição, bem como com o manejo dos rebanhos (Palhares, 1989).

Jordão e Gouveia (1950) ao avaliarem a fertilidade de éguas cobertas por 24 garanhões PSI, obtiveram taxas de concepção variando de 51,2% a 79,3%, com uma média de 60,3%. As percentagens de potros nascidos vivos variaram de 48,2% a 75,7%, com uma média de 56,4%. Ao trabalhar com 1206 éguas no período de 1984 a 1990, obteve-se uma taxa de concepção de 59,9% (Darenius, 1992).

Jordão *et al.* (1954) obtiveram uma taxa de parto de 35,9% em éguas mantidas sob regime de monta a pasto com jumentos, ao longo de 14 estações de monta, no posto de Monta de Colina – SP. Neste estudo, a taxa de concepção observada para as fêmeas cobertas por garanhões foi de 49,3%.

Alguns estudos apontam para uma maior eficiência reprodutiva quando do uso da inseminação artificial em detrimento da monta natural. Assim, em um estudo conduzido por Voss e Pickett (1976), utilizando dados da Associação Americana dos Criadores de Árabe, observou-se uma taxa de concepção, percentagem de potros vivos e número de serviços/concepção, de

83,1%, 73,8% e 1,5, respectivamente, para 913 éguas consideradas normais servidas por inseminação artificial. Valores inferiores foram obtidos para 513 éguas na mesma

condição, servidas por monta natural, quando obteve-se taxas de 74,5%, 68,7% e 1,6, respectivamente, para as mesmas características avaliadas anteriormente.

Tabela 33. Taxas de concepção e de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos inter (T1) ou intraespécies (T2), avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 205 dias de gestação

Parâmetros Avaliados	Tratamento		Total
	T1 (Éguas cobertas por garanhões)	T2 (Éguas cobertas por jumentos)	
Número de Ciclos	36	38	74
Idade das Éguas	11,36±0,70	11,82±0,43	11,59±0,40
Número de Cobrições/Ciclo	2,32±0,20	2,11±0,19	2,22±0,14
Taxa de Concepção/Ciclo (%)	73,68 (28/38)	77,78 (28/36)	75,68 (56/74)
Perdas Gestacionais (%)	28,57 (8/28) <sup>a</sup>	7,14 (2/28) <sup>b</sup>	17,86 (10/56)
Intervalo Médio da Ovulação à Perda Gestacional (dias)	38,25±7,34	22,50±7,50	35,10±6,26

<sup>a,b</sup> Medias seguidas por letras diferentes na linha, diferem entre si (p<0,05).

Ao utilizarem 225 ciclos, durante três estações de monta consecutivas, Mattos e Cavalheiro (1988) obtiveram taxas de concepção por ciclo superiores, quando da utilização da inseminação artificial com sêmen a fresco (78%), em relação ao uso da monta natural (65,3%).

Ainda neste contexto, Mattos *et al.* (1996) obtiveram com o uso da monta natural e inseminação artificial com sêmen a fresco, taxas de gestação de 63,6% e 71,4%; de 52,9% e 92,8%; e de 71,7% e 79,2%, para éguas virgens, éguas falhadas e lactantes, respectivamente, encontrando-se diferenças (p<0,05) entre as técnicas utilizadas, apenas na categoria de éguas falhadas. Para as éguas no “cio do potro”, a taxa de gestação também foi superior quando do uso da inseminação, em relação à monta natural (79,2% e 54,5%, respectivamente).

Por outro lado, Hughes e Loy (1970) encontraram taxas de concepção de 67,4% (n=218) e 78,9% (n=199) quando da utilização da inseminação artificial e da monta natural, respectivamente. Entretanto, segundo os autores, um maior número de éguas vazias há várias estações de monta

foram inseminadas, o que poderia justificar o melhor desempenho do grupo submetido à monta natural.

Em estudo recente, Díaz *et al.* (2009) apontaram para uma melhor eficiência de éguas submetidas à inseminação artificial, ao registrarem uma taxa de concepção de 32,08%, em 134 éguas cobertas por monta natural e de 53,80% em éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco, diluído em diluidor à base de leite.

Belling (1985), no entanto, não encontrou diferenças entre os regimes de monta natural e inseminação artificial, demonstrando taxas de concepção variando de 64% a 85%, e de 68,1% a 76,8%, para os dois métodos de acasalamento, respectivamente. De maneira similar, Nishikawa (1975) em estudo realizado entre 1961 e 1965, obteve uma taxa de concepção de 67,3% (n=407), ao utilizar inseminação artificial com sêmen diluído em diluidor CGH-27, e resfriado por 2-8 horas à 4°C, valor similar ao obtido com a monta natural, no mesmo período.

Em equinos, a inseminação artificial utilizando sêmen a fresco, resulta em

fertilidade similar à da monta natural (Merkt, 1976; Palmer, 1984; Mattos e Cavalheiro, 1988; Mattos *et al.*, 1996), porém oferece vantagens, como uma maior taxa de prenhez por ciclo, maior número de éguas servidas por um mesmo garanhão, diminuição dos riscos com o transporte das fêmeas e redução da transmissão venérea (Brinsko e Varner, 1992). Vale salientar, nesse momento, que a inseminação artificial proporciona uma menor contaminação uterina, graças à higiene do processo, aliada ao uso de diluidores seminais contendo antibióticos em sua composição. Isso é especialmente importante em éguas susceptíveis e com predisposição à endometrite persistente pós-cobertura, nas quais obtém-se melhores índices de fertilidade quando do uso da inseminação artificial (Mattos *et al.*, 1996).

No momento da cobertura, o pênis do garanhão carrega uma série de debris e microorganismos, próprios e do meio exterior, que são depositados diretamente no lúmen uterino causando uma infecção uterina (Kenney *et al.*, 1983). A maioria das éguas consegue eliminar essa contaminação até 96 horas após e ficam livres da infecção antes que o embrião alcance o útero (Hughes e Loy, 1969).

No presente experimento, tal problema parece ter sido de menor importância, considerando-se que as taxas de gestação, tanto nas cobrições envolvendo garanhões quanto nas que envolveram jumentos, apresentaram-se superiores às obtidas nos experimentos II e III da presente dissertação, ambos utilizando a inseminação artificial com sêmen a fresco ou resfriado. Talvez as fêmeas utilizadas tenham contribuído para as altas taxas de fertilidade obtidas, considerando-se que além de serem predominantemente jovens, com idades variando de  $11,36 \pm 0,70$  a  $11,82 \pm 0,43$ , apresentavam-se, em sua maioria, com o sistema genital saudável, sem anomalias importantes ou predisposição à acúmulo de líquido e endometrites. Segundo Bristol

(1982) é preciso lembrar que na natureza, éguas são cobertas em regime de monta natural a campo, com resultados eficientes. Estudo conduzido pelo autor demonstrou uma taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 85% em 20 éguas cobertas, em média, 4,6 vezes por ciclo.

Apesar de alguns estudos demonstrarem menores taxas de concepção em éguas cobertas ou inseminadas com jumentos em relação à garanhões (Jordão *et al.*, 1954 e Díaz *et al.*, 2009), não se observou ( $p > 0,05$ ) esse efeito no presente experimento. Vale destacar que a literatura referente à fertilidade obtida com a utilização do sêmen asinino, seja por monta natural ou inseminação artificial com sêmen a fresco ou a fresco diluído, é escassa, e com resultados muitas vezes divergentes.

Não é demais enfatizar a dificuldade em realizar-se uma comparação dos dados obtidos neste experimento com os apresentados pela literatura, devido à utilização de diferentes metodologias de inseminação artificial ou monta natural, diferentes intervalos da cobrição ou inseminação à ovulação bem como às diferentes formas de utilização do sêmen (fresco, fresco-diluído, resfriado ou congelado), além de outras variáveis a se considerar, tais como a fertilidade inerente das éguas e dos garanhões ou jumentos utilizados.

Observa-se na tabela 33 que o único parâmetro de fertilidade a diferir ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos foi o de perdas gestacionais, sendo de 28,57% (8/28) e 7,14% (2/28), respectivamente, para as gestações intra (T1) e interespécies (T2). Nas éguas do T1, cobertas por reprodutores equinos, realizou-se diagnóstico de gestação por um período mínimo de 128 e máximo de 205 dias pós-ovulação. Naquelas fêmeas destinadas aos reprodutores asininos (T2), o diagnóstico se estendeu por no mínimo 153 e no máximo por 194 dias de gestação (tabela 34).

Tabela 34. Distribuição das perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos com garanhões equinos (cruzamentos intraespécies) ou asininos (cruzamentos interespécies), avaliadas à diferentes períodos ao longo da gestação (12,67±0,18 à 164,78±3,70 dias), no experimento IV

Avaliação ultrassonográfica de éguas por intervalo de tempo		Tratamento - Tipo de Gestação								Total de ciclos	Perdas gestacionais por intervalo de tempo
Dias	n	T1- Éguas cobertas por garanhões				T2- éguas cobertas por jumentos					
		Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais	Éguas gestantes	Éguas vazias	Éguas não examinadas	Perdas gestacionais		
0-15 (12,67±0,18)	61	23	10	5	...	20	8	8	...	74	...
16-30 (23,00±0,75)	37	16	...	11	1	19	...	8	1	56	2
31-45 (37,27±1,13)	22	8	...	15	4	9	...	17	1	54	5
46-60 (54,07±1,01)	14	6	...	16	1	7	...	19	0	49	1
61-90 (73,38±1,40)	39	18	...	3	1	20	...	6	0	48	1
91-120 (105,12±1,60)	33	16	...	4	1	16	...	10	0	47	1
121-150 (132,23±1,51)	35	19	...	1	0	16	...	10	0	46	0
>150 (164,78±3,70)	9	4	...	16	0	5	...	21	0	46	0
Total	...	28	10	...	8	28	8	...	2	56	17,86 (10/56)

A distribuição das perdas gestacionais observadas, nos dois tratamentos, está apresentada na tabela 34. Observa-se que no T1, envolvendo as éguas cobertas por garanhões, 50% (4/8) das perdas ocorreram no período compreendido entre os dias 31 e 45 da gestação. No caso das fêmeas cobertas por jumentos (T2), houve uma perda entre os dias 16 e 30, e outra entre os dias 31 e 45 pós-ovulação.

Observa-se ainda, na tabela 33, que o intervalo médio da ovulação à perda gestacional não diferiu ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo de  $38,25 \pm 7,34$  para as gestações intraespécies e  $22,50 \pm 7,50$  para aquelas interespécies.

Em equinos, as taxas de morte embrionária (até os 40 dias de gestação) situam-se entre 5 e 24% (Chevalier e Palmer, 1982; Ginther *et al.*, 1985; Woods *et al.*, 1987). Já as taxas de aborto variam de 7 a 12% (Platt, 1973;

Irwin, 1975; Sullivan *et al.*, 1975; Chevalier e Palmer, 1982). Os principais fatores envolvidos nos dois tipos de perda são similares: idade da égua (Bain, 1969; Platt, 1973), concepções durante a lactação ou no “cio do potro” (Platt, 1973), efeito do reprodutor (Jordão *et al.*, 1954; Platt, 1973), gestações gemelares (Ginther, 1984) e doenças uterinas como a fibrose periglandular (Kenney, 1978).

Na Austrália, Bain (1969) observou que de 2562 gestações equinas, 19% não resultaram no nascimento de um potro vivo. Das perdas ocorridas, 13,64% se deram entre os 20 e 40 dias da gestação, e 12,4% após esse período. Assim, nenhum estágio gestacional pôde ser relacionado com uma maior ocorrência de perdas.

Garg e Manchanda (1986) observaram uma taxa de aborto de 8,7% em um total de 2000 gestações estudadas, sendo que a

prevalência das perdas, em relação ao período gestacional, foi demonstrada em dois picos, um na metade da gestação, entre as semanas 20 e 32, e outro ao final da gestação, entre as semanas 37 e 44.

Chevalier e Palmer (1982) trabalhando com ultrassonografia, estudaram a morte embrionária a partir do 14º dia da ovulação, num total de 7438 exames realizados em 4688 éguas de diferentes raças e condições reprodutivas. A taxa de morte embrionária foi de 5,3%, sendo, acima dos 43 dias, de 9%, não havendo um período crítico de ocorrência das perdas, mesmo em função da condição reprodutiva.

Boeta e Zarco (2005) ao compararem a incidência de perdas gestacionais em éguas cobertas ou inseminadas por asininos ou equinos, detectaram, no grupo de fêmeas gestando embriões muares, ausência de morte embrionária, uma vez que todas as perdas (36,8%) se deram no período fetal. Em contrapartida, as éguas gestando embriões equinos, apresentaram 50% das perdas no período embrionário e 50% no período fetal.

Não existem relatos na literatura que envolvam o acompanhamento gestacional completo de éguas gestando embriões muares, o que tem impossibilitado determinar a existência de um período de predominância das perdas gestacionais nesses casos. Mais estudos são necessários nesse sentido, de forma a mensurar essas perdas ao longo da gestação, e se possível intervir de forma a amenizar os prejuízos advindos da sua ocorrência.

Ao comparar-se na cadeia produtiva dos muares a taxa de perda gestacional das éguas cobertas por garanhões observada no presente experimento com as mencionadas em diferentes trabalhos publicados, que também avaliaram esse parâmetro em gestações intraespécies de equinos, observa-se que os resultados deste experimento são similares aos obtidos por Boeta e Zarco (2005), porém superam os demonstrados por

Nishikawa (1959); Vanderwall (2011); Klug *et al.* (1975); Von Lepel (1975); Garg e Manchanda (1986); Ginther (1992); Papa *et al.* (1998); Morris e Allen (2002); Rabelo (2009) e Boeta e Zarco (2010).

Neste sentido, ao avaliarem a taxa de perda gestacional em éguas cobertas por garanhões, Boeta e Zarco (2005) obtiveram uma taxa de 21,4% (6/28), quando de acompanhamentos semanais dos 20 aos 150 dias de gestação.

Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011), estimaram entre 7 e 15% a incidência de morte embrionária em éguas gestando embriões equinos, considerando-se as perdas ocorridas até os 100 dias de gestação. Von Lepel (1975) observou uma taxa de perda embrionária de 8,9% na Alemanha Ocidental. De maneira similar, Garg e Manchanda (1986) observaram uma incidência de aborto de 7,8% em éguas servidas por monta natural com garanhões.

Já Klug *et al.* (1975), ao inseminarem 116 éguas com sêmen equino congelado, verificaram uma taxa de parto de 44%, observando-se uma taxa de perda embrionária de 14,5%. Diferentemente do esperado, os autores não observaram qualquer evidência de que o sêmen congelado aumente as taxas de perda embrionária.

Para Ginther (1992) as taxas de perdas gestacionais, entre os dias 20 a 90 pós-ovulação, variam de 7 a 16%. Resultados similares foram demonstrados por Papa *et al.* (1998) que, ao acompanharem 128 éguas das raças Puro Sangue Inglês e Quarto de Milha até os 30 dias de gestação, observaram uma taxa de perda gestacional de 13,3%.

Morris e Allen (2002) avaliando a eficiência reprodutiva de éguas Puro-Sangue cobertas por garanhões, obteve uma taxa de perda gestacional de 17,3% (199/1144), sendo que a maior parte das perdas (59,7%) ocorreu entre os dias 15 e 35 de gestação.



Mais recentemente, Rabelo (2009) avaliando éguas da raça Mangalarga Marchador envolvidas em um programa de transferência de embriões, obteve uma taxa de perda gestacional total de 9,06% (29/320) até o 45º dia de gestação.

Taxa de perda similar foi obtida por Boeta e Zarco (2010) ao avaliarem 22 éguas inseminadas com sêmen de garanhões. Obtiveram, no período embrionário, ou seja, antes dos 40 dias de gestação, uma taxa de mortalidade embrionária de 9,1%. No controle gestacional subsequente, a partir dos 40 dias até os 120 dias pós-ovulação, a taxa de aborto encontrada foi de 5%.

Estimativas de perdas gestacionais em equídeos têm sido publicadas; entretanto, pouco se sabe sobre a sua etiologia. Registros encontrados na literatura indicam uma variação de 5 a 45% nos índices de perdas (Ball, 1993), refletindo diferenças entre haras, dificuldades de diagnóstico e períodos da gestação avaliados.

Diversos fatores podem afetar a taxa de mortalidade embrionária. Dentre eles, existem os fatores intrínsecos às éguas (idade, produção hormonal, ambiente uterino), os fatores extrínsecos (nutrição, manejo, temperatura ambiente, qualidade do sêmen, momento da inseminação) e os fatores ligados ao embrião (anormalidades genéticas e cromossômicas, fatores imunológicos) (Mckinnon, 1996).

Enfatiza-se que, nos trabalhos da literatura envolvendo o acompanhamento gestacional realizado a diferentes períodos, não tem sido possível estabelecer-se um parâmetro confiável. Além disso, as metodologias são variáveis e as condições experimentais diversas.

Com relação às perdas apresentadas pelas fêmeas envolvidas nos cruzamentos com jumentos, a taxa obtida no presente experimento é inferior às taxas demonstradas por Jordão *et al.* (1954); Garg e Manchanda (1986); Boeta e Zarco (2005);

Canisso (2008) e Boeta e Zarco (2010). Além disso, os resultados mostram-se superiores aos de Ferreira (1993) porém similares aos de Rossi (2008). Todos os estudos citados referem-se à gestações interespécies, resultantes do cruzamento entre éguas e jumentos.

A literatura é escassa no que diz respeito à eficiência reprodutiva de éguas envolvidas na produção de muares. Muitos estudos têm demonstrado maiores taxas de perda gestacional em éguas cobertas ou inseminadas com jumentos (Jordão *et al.*, 1954; Garg e Manchanda, 1986; Boeta e Zarco, 2005 e Boeta e Zarco, 2010), em relação àquelas cobertas ou inseminadas com o sêmen de garanhões.

Neste contexto, Jordão *et al.* (1954) obtiveram uma taxa de parto de apenas 35,9% em éguas submetidas à monta natural com jumentos em 14 estações de monta consecutivas. A taxa de concepção observada para as éguas cobertas com garanhões foi de 49,3%.

Uma incidência de aborto de 10,4% foi observada em éguas cobertas por monta natural com jumentos, superior à observada em éguas cobertas por garanhões, de 7,8% (Garg e Manchanda, 1986). Entretanto, Ferreira (1993) ao avaliar as perdas ocorridas entre os dias 30 e 50 da gestação, em éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumento, observou uma taxa de perda de 5,5%, similar à descrita na literatura para éguas gestando embriões equinos. De maneira similar, Rossi (2008) obteve uma taxa de perda gestacional de 8,51% ao acompanhar 141 éguas até o final da estação de monta.

Ao avaliar a fertilidade do sêmen asinino congelado, Canisso (2008) observou taxas de perdas embrionárias, entre os dias 13 e 25 ou entre os dias 25 e 35 da gestação, de 18,75% e 61,53% para o diluidor de Nagase e Graham (1964) modificado, e de 6,67% e 78,57% para o diluidor de Martin *et al.* (1979) respectivamente, que não diferiram

( $p > 0,05$ ) entre si dentro do mesmo período de avaliação. As gestações foram acompanhadas somente até os 35 dias de gestação. Além disso, verificou-se que as taxas de perdas gestacionais foram superiores às descritas pela literatura envolvendo éguas inseminadas ou cobertas com garanhões, estando, ainda, muito acima das observadas em éguas cobertas ou inseminadas com jumentos (Garg e Manchanda, 1986; Boeta e Zarco, 2005; Boeta e Zarco, 2010).

Ao compararem a perda gestacional de éguas inseminadas com o sêmen de garanhões ou jumentos, Boeta e Zarco (2005) observaram uma incidência superior de perdas para as fêmeas inseminadas com o sêmen de jumentos, de 36,8% (7/19), em relação àquelas cobertas por garanhões, de 21,4% (6/28). Neste estudo, os autores avaliaram as gestações até os 150 dias pós-ovulação. Resultados similares foram demonstrados no experimento II da presente dissertação, que envolveu os dados de parto das fêmeas utilizadas no trabalho de Rossi (2008), quando observou-se uma taxa média de perdas gestacionais de 33,09%.

Em estudo recente, Boeta e Zarco (2010) observaram uma taxa de aborto de 30% (9/30) em éguas inseminadas com o sêmen de jumentos, frequência superior à observada nas fêmeas inseminadas com o sêmen de garanhões, de apenas 5% (1/20). Enfatiza-se que a incidência de morte embrionária (antes dos 40 dias de gestação) não diferiu ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo de 6,2% e 9,1%, para éguas gestando embriões muares ou equinos, respectivamente.

Vale salientar, novamente, os diferentes períodos de gestação avaliados pela literatura, responsáveis pela grande variabilidade dos resultados apresentados, que podem torná-los, muitas vezes, contraditórios. Dentro desse contexto, ressalta-se o trabalho conduzido por Rossi (2008) que obteve uma taxa de perda

gestacional de apenas 8,51% em 141 éguas acompanhadas até o final da estação de monta. Os dados de parto dessas mesmas fêmeas, avaliados no experimento II da presente dissertação, apresentaram, no entanto, uma taxa de perda gestacional de 33,09%, muito superior aos 8,51% iniciais.

Pretende-se desta forma, confrontar no futuro, os dados de parto das éguas utilizadas nos experimentos III e IV da presente dissertação, com as taxas de perdas gestacionais obtidas, quando da sua avaliação até o período máximo de 205 dias pós-ovulação, e apresentadas nas tabelas 29 e 33. Tal avaliação já foi possível no Experimento II, como citado anteriormente (8,51% versus 33,09%).

A menor eficiência reprodutiva observada por Jordão *et al.* (1954); Garg e Manchanda (1986); Boeta e Zarco (2005) e Boeta e Zarco (2010) pode ser justificada pela limitada produção de gonadotrofina coriônica equina (eCG) pelas éguas que gestam embriões híbridos (Pigoniowa, 1963), em virtude do desenvolvimento inadequado dos cálices endometriais, associado à sua regressão prematura (Allen *et al.* 1987). Muitos trabalhos demonstraram que o genótipo fetal e o ambiente uterino exercem grande influência no desenvolvimento dos cálices endometriais e, conseqüentemente, na produção de eCG (Bielanski *et al.* 1956; Clegg *et al.* 1962; Allen, 1969, 1975, 1982a; Allen *et al.*, 1987).

As gestações híbridas entre diferentes espécies de equídeos, produzem alterações que resultam em importantes diferenças na formação, manutenção e destruição dos cálices endometriais. Assim, éguas gestantes de embriões muares exibem concentrações séricas de eCG de seis a dez vezes menores que as éguas gestando embriões equinos. Além disso, o período de secreção da eCG é mais curto, sendo que o hormônio se torna indetectável na corrente sanguínea antes dos

80 dias de gestação (Boeta e Zarco, 2005; Acosta, 2008).

Outra característica observada nas gestações híbridas de equídeos é a resposta leucocitária materna, que se apresenta mais precoce e mais agressiva. Em éguas gestando embriões muares, observa-se, já no 45º dia da gestação, a invasão e fagocitose das células dos cálices, por um grande número de leucócitos acumulados na região, ao contrário do que observa-se nas gestações intraespécies de equinos, quando estas células permanecem confinadas à periferia do cálice. Conseqüentemente, aos 60 dias de gestação, os cálices endometriais apresentam-se completamente necróticos nas gestações muares (Allen 1975c, 1982).

No entanto, a destruição prematura dos cálices endometriais e a menor produção de eCG em gestações muares não significa impossibilidade de levar a gestação a termo. Nesse sentido, Boeta e Zarco (2005) observaram que um considerável número de éguas cobertas com jumentos mantiveram a gestação normalmente, apesar das concentrações séricas basais de eCG. O mesmo foi observado no presente experimento, quando da avaliação das perdas gestacionais no grupo de éguas cobertas por jumentos, de apenas 7,14% (2/28) e inferior ( $p < 0,05$ ) à taxa apresentada pelo grupo de éguas submetido à monta natural com garanhões equinos, que foi de 28,57% (8/28). Entretanto, aqui, não mensurou-se os padrões de eCG nem de progesterona circulante em nenhum dos grupos estudados.

Em seu estudo, Boeta e Zarco (2005) não observaram aumento das concentrações circulantes de progesterona entre os dias 35 e 49 de gestação, como observado nas éguas gestando embriões equinos, indicando que as baixas concentrações de eCG nas éguas gestando embriões híbridos, não estimularam a função lútea. No entanto, Acosta (2008) observou que mesmo sob menores concentrações de eCG, houve

formação de corpos lúteos acessórios nas éguas inseminadas com sêmen de asininos, apesar de se formarem mais tardiamente e em menor número.

Allen (1975b) observou grande influência da estacionalidade reprodutiva sobre a atividade ovariana de éguas, quantificada pelo tamanho ovariano, número de folículos e taxa de ovulação durante a gestação. Em seu estudo, o autor observou que as éguas que conceberam entre os meses de abril e julho (hemisfério norte), apresentaram alta atividade ovariana aos 40 dias de gestação, cujo pico coincidiu com os níveis máximos de eCG circulantes. No entanto, a atividade ovariana foi mantida após a queda relativa das concentrações de eCG. Diferentemente, as éguas que conceberam entre julho e fevereiro, não apresentaram aumento marcante da atividade ovariana advinda do incremento das concentrações de eCG. Diante disto, concluiu-se que a eCG atua de forma sinérgica com as gonadotrofinas de origem hipofisária, sendo estas responsáveis pelo estímulo primário para a atividade ovariana nas éguas gestantes.

Em estudo subsequente, Allen (1984) sugeriu que o LH de origem hipofisária poderia suportar a função lútea, na ausência de eCG, em éguas gestando embriões muares, possibilitando assim a manutenção da gestação. Segundo Boeta e Zarco (2005), éguas que concebem no início da estação de monta passam pelo primeiro trimestre da gestação em uma época do ano em que não há supressão da liberação de LH. Assim, a sua presença seria suficiente para prover um estímulo luteotrópico capaz de manter as concentrações de progesterona acima de um limiar necessário para a manutenção da gestação, em éguas gestando embriões muares. Esta proposta pode ser suportada por um estudo conduzido anteriormente por Snyder *et al.* (1979) quando detectou-se maior concentração de LH na penúltima, em relação à última ovulação da estação de monta, enfatizando o efeito sazonal sobre as concentrações de LH.

Desta forma, talvez a eCG seja um mecanismo desenvolvido para substituir o efeito luteotrópico do LH hipofisário, quando a concepção ocorre ao final da estação ovulatória, e sendo assim, não seria fundamental para a manutenção da gestação na égua. Dando suporte a essa conclusão, Boeta e Zarco (2005) não observaram ( $p>0,05$ ) diferenças nas concentrações de eCG e progesterona em éguas gestando embriões muares, que levaram ou não a gestação a termo.

Na mesma linha de pesquisa, Acosta (2008) buscou avaliar a importância da eCG na manutenção da gestação de éguas que conceberam ao final da estação de monta. Para isso, utilizou como modelo a égua gestando embrião muar, uma fêmea sabidamente deficiente na produção de eCG. No entanto, a autora não encontrou diferenças ( $p>0,05$ ) quanto às perdas gestacionais em concepções ocorridas no início ou ao final da estação reprodutiva.

Além disso, não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) nas concentrações de progesterona e eCG entre os dois grupos.

Resultados similares foram obtidos no presente experimento, quando não se observou ( $p>0,05$ ) efeito significativo do mês da ovulação e assim da concepção, sobre a incidência de perdas gestacionais (tabela 36). Em função do baixo percentual de perdas gestacionais por mês e da ausência de significância ( $p>0,05$ ) no que se refere às taxas de gestação, os dados dos T1 (fêmeas cobertas por garanhões), e T2 (fêmeas cobertas por jumentos) foram agrupados, com o intuito de investigar o efeito do mês da ovulação sobre as taxas de gestação e de perdas gestacionais. Os resultados apontaram similaridade ( $p>0,05$ ) dos parâmetros reprodutivos avaliados nos meses da estação de monta (outubro, novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março), como observa-se na tabela 36.

Tabela 35. Distribuição das éguas por mês de ocorrência da ovulação, entre os tratamentos do experimento IV

Mês da Ovulação	Tratamentos		Total
	T1- Éguas Cobertas por Jumentos	T2- Éguas Cobertas por Garanhões	
Outubro	3	2	5
Novembro	5	3	8
Dezembro	7	13	20
Janeiro	8	6	14
Fevereiro	12	12	24
Março	3	0	3
Total	38	36	74

Diferentemente, no experimento II da presente dissertação observou-se efeito significativo ( $p<0,05$ ) do mês da concepção sobre a incidência de perdas gestacionais (tabela 26). A maior frequência de perdas esteve associada à concepção nos meses finais da estação de monta, corroborando para a hipótese de que a eCG substitui a função luteotrópica exercida normalmente pelo LH em éguas que concebem no início da estação de monta. Possivelmente, éguas

gestando embriões híbridos, cuja função da eCG é deficiente, sejam mais suscetíveis à ocorrência de perdas gestacionais quando cobertas ou inseminadas ao final da estação reprodutiva, época em que os níveis de LH endógenos são reduzidos gradativamente, e assim responder por menores concentrações de progesterona, insuficientes para manter a gestação.

A importância do LH hipofisário nas gestações muares foi demonstrada no estudo

de Ariás (2011). A taxa de perda gestacional (dias 30 a 100 de gestação) de fêmeas gestando embriões híbridos chegou a 62,5% (5/8), quando as fêmeas foram tratadas com um antagonista do GnRH. Além disso, observou-se redução gradual do número de folículos maiores que 20 mm, com completa supressão do desenvolvimento dos mesmos entre as semanas 9,5 e 12,5 da gestação. No entanto, quando éguas gestando embriões equinos foram tratadas com o mesmo antagonista do GnRH, o desenvolvimento folicular não foi afetado da mesma forma, uma vez que tanto o número quanto o volume foliculares alcançaram níveis máximos durante o tratamento, coincidindo exatamente com o pico de secreção da eCG. Ainda, nenhuma égua deste grupo sofreu

aborto. Percebe-se que nestas fêmeas, a supressão do LH não afetou o desenvolvimento folicular, alimentado pelas altas concentrações séricas de eCG, o que não aconteceu nas éguas gestando embriões muares, pela produção deficiente deste hormônio.

Vale salientar, neste momento, que as éguas do Experimento II da presente dissertação foram acompanhadas até o parto, enquanto as éguas do presente experimento (Experimento IV) foram acompanhadas no T1 (gestações intraespécies) por um período mínimo de 128 e máximo de 205 dias pós-ovulação, enquanto aquelas com gestações interespécies (T2), foram acompanhadas por um período mínimo de 153 e máximo de 194 dias de gestação.

Tabela 36. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas cobertas por monta natural, avaliadas no período mínimo de 12 e máximo de 205 dias de gestação, considerando-se o mês de ocorrência da ovulação

Mês da Ovulação	Taxa de gestação (%)	Perdas Gestacionais (%)
Outubro	80,00 (4/5)	50,00 (2/4)
Novembro	62,50 (5/8)	0,00 (0/5)
Dezembro	90,00 (18/20)	16,67 (3/18)
Janeiro	78,57 (11/14)	9,09 (1/11)
Fevereiro	70,83 (17/24)	17,65 (3/17)
Março	33,33 (1/3)	100,00 (1/1)
Total	75,68 (56/74)	17,86 (10/56)

Assim como no presente experimento Acosta (2008) também não observou efeito do mês da concepção sobre as perdas gestacionais. Neste experimento, há que se considerar dois aspectos importantes. Inicialmente, o reduzido número de éguas utilizado, de apenas 32 fêmeas, que pode ter sido insuficiente para evidenciar possíveis diferenças entre os grupos. Em segundo lugar, há que se considerar que a autora não acompanhou as éguas até o parto, mas apenas até os 120 dias, como no presente experimento. Há que se considerar, novamente, que em um trabalho conduzido por Rossi (2008), observou-se uma taxa de perda gestacional de apenas 8,51%

em 141 éguas gestando embriões muares. Entretanto, quando as éguas foram acompanhadas até o parto (Experimento II da presente dissertação), a taxa de perda gestacional foi de 33,09%.

Diante dos dados apresentados anteriormente, parece que um estudo desta natureza requereria o acompanhamento integral das gestações até o parto, procedimento não encontrado na maioria dos trabalhos publicados, até o presente momento. Exceção à regra é o trabalho conduzido por Rossi (2008), cujas perdas gestacionais encontram-se apresentadas no experimento II, da presente dissertação.

## 5.5. Metanálise envolvendo a fertilidade e as perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies

5.5.1. Taxas de gestação e de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies.

Realizou-se neste capítulo uma metanálise dos dados relativos às fêmeas dos Experimentos II, III e IV da presente dissertação, visando-se avaliar os parâmetros de fertilidade e as perdas gestacionais

de 311 éguas, submetidas à cruzamentos intraespécies (garanhões) ou interespécies (jumentos).

Para tal, utilizou-se 384 ciclos, de 311 éguas mestiças, com idades variando de 2,5 a 20 anos, e pertencentes à quatro categorias reprodutivas, a saber, potras, éguas solteiras, paridas ou no “cio do potro”. No total, envolveu-se 38 ciclos de éguas cobertas por garanhões (cruzamentos intraespécies) e 346 ciclos de éguas cobertas ou inseminadas por jumentos (cruzamentos interespécies). Os parâmetros de fertilidade avaliados estão apresentados na tabela 37.

Tabela 37. Taxas de gestação por ciclo e de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação

Parâmetros Avaliados	T1- Cruzamento Intraespécie	T2- Cruzamento Interespécie	Total
Número de Ciclos	38	346	384
Taxa de Concepção/Ciclo	73,68 (28/38)	63,01 (218/346)	64,06 (246/384)
Perdas Gestacionais (%)	29,63 (8/27)*	26,77 (53/198)**	27,11 (61/225)

\* Uma das éguas cobertas com garanhão não foi acompanhada pelo período mínimo de tempo proposto (120 dias de gestação)

\*\* Vinte éguas cobertas com jumentos não foram acompanhadas pelo período mínimo de tempo proposto (120 dias de gestação)

Observa-se na tabela 37 que a taxa de concepção/ciclo não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo de 73,68% (28/38) para os cruzamentos intraespécies, e 63,01% (218/346) para os cruzamentos interespécies, com uma média de 64,06% (246/384).

Buscando nos dados apresentados pela literatura envolvendo a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco, a fresco/diluído, resfriado ou ainda cobertas por monta natural com asininos, os resultados do presente experimento, quanto às taxas de concepção obtidas de cruzamentos interespécies (jumento x égua), apresentaram-se similares aos obtidos por Silva (1988); Leite (1994) e Rossi (2008). Além disso, obteve-se, no presente experimento, taxas de concepção/ciclo superiores aos resultados demonstrados por

Jordão *et al.* (1954); Boeta e Zarco (2000); Rozas (2005); Rossi (2008); Diaz (2009) e Vidament *et al.* (2008), sendo, entretanto, inferiores às observadas por Ferreira (1993) e Boeta e Zarco (2000).

Silva (1988) obteve uma taxa de concepção média de 59,4% em três estações de monta consecutivas, ao trabalhar com sêmen asinino a fresco diluído em diluidor à base de gema de ovo. Também utilizando sêmen a fresco diluído, porém em diluidor a base de leite, e dose de 200 milhões de espermatozoides móveis, Leite (1994) obteve uma taxa de concepção de 53,12%.

Ao utilizar o sêmen de jumentos da raça Pêga, resfriado à uma temperatura final de 5°C, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ ciclo de 49,74%, para o sêmen

armazenado por até 12 horas, e de 58,44% para o sêmen a fresco diluído.

Jordão *et al.* (1954) avaliaram a fertilidade de 259 éguas cobertas por monta natural com 28 jumentos durante 14 estações de monta consecutivas, obtendo uma taxa de parto de apenas 35,9%. Resultado similar foi demonstrado por Díaz *et al.* (2009) ao registrarem taxas de concepção de 32,08% em 134 éguas cobertas por monta natural com jumentos. Ao realizarem a inseminação com sêmen a fresco, diluído em diluidor à base de leite, a taxa de concepção obtida foi de 53,80%.

Em éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado, diluído em diluidor à base de leite desnatado-glicose ou diluído em leite desnatado ultrapasteurizado (UHT), Boeta e Zarco (2000) obtiveram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 54,5% (6/11) e 76,5% (13/17), respectivamente. Também trabalhando com sêmen diluído em leite UHT, porém resfriado e armazenado à 4°C por até 8 horas, Vidament *et al.* (2008) obtiveram uma taxa de concepção por ciclo de 45%, ao inseminarem éguas e jumentas. Ainda usando como diluidor o leite desnatado ultrapasteurizado, porém inseminando somente jumentas, Rozas (2005) obteve taxas de concepção por ciclo de 25,66% (29/113) e de 47,36% (18/38), durante duas estações de monta consecutivas.

Resultados superiores aos citados até o momento foram demonstrados por Ferreira (1993) ao utilizar sêmen a fresco de asininos, diluído em diluidor lactose-gema de ovo, que proporcionou uma taxa de concepção por ciclo média de 82,70%. Vale ressaltar que a autora utilizou apenas um reprodutor para a inseminação das éguas, o que pode ter respondido pela excelente taxa de concepção apresentada.

Com relação à taxa de concepção apresentada nos cruzamentos que envolveram a monta natural com garanhões (cruzamentos intraespécies), a taxa de

concepção por ciclo aqui obtida assemelha-se aos resultados apresentados por Voss e Pickett (1976) de 74,5%, quando avaliou-se 513 éguas cobertas por monta natural. Ainda, Jordão e Gouveia (1950) quando da avaliação da fertilidade de éguas cobertas por 28 garanhões da raça Puro Sangue Inglês, obtiveram taxas de concepção variando de 51,2% a 79,3%, com uma média de 60,3%. O grande número de reprodutores utilizados pode ter contribuído para a variabilidade dos resultados.

De maneira similar, Hughes e Loy (1970) e Belling (1985) encontraram resultados satisfatórios quando do uso da monta natural, com taxas de concepção de 78,9% e variando de 64% a 85%, respectivamente.

No entanto, os resultados apresentados na presente avaliação mostraram-se superiores aos obtidos por Darenius (1992); Mattos e Cavalheiro (1988) e Morris e Allen (2002) sendo, entretanto, inferiores aos de Hemberg *et al.* (2004).

Ao trabalharem com 1206 éguas no período de 1984 a 1990, Darenius (1992) obteve uma taxa de parto de 59,9%, quando do uso da monta natural. Resultado ligeiramente superior foi obtido por Mattos e Cavalheiro (1988) com uma taxa de concepção por ciclo de 65,3%, quando de uma avaliação de 225 ciclos estrais.

Em estudo envolvendo 1393 éguas Puro-Sangue, Morris e Allen (2002) obtiveram uma taxa de concepção por ciclo média de 59,9% aos 15 dias pós-ovulação. Já Hemberg *et al.* (2004), trabalhando com dois garanhões e 430 éguas Puro-Sangue, no período de 1997 a 2001 na Suécia, obtiveram taxas de concepção e de potros nascidos vivos de 90,9% e 79,8%, respectivamente, não havendo diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os garanhões no que diz respeito a estes parâmetros.

Enfatiza-se que o número de ciclos utilizados nos cruzamentos interespecies (346) foi muito superior ao utilizado para

comparação nos cruzamentos intraespécies (38), o que reflete a heterogeneidade dos dois grupos avaliados. No entanto, o intuito principal do agrupamento desses dados foi o de avaliar as taxas de concepção e de perdas gestacionais das éguas cobertas ou inseminadas com o sêmen de jumentos, funcionando o grupo de éguas submetidas ao cruzamento intraespécie como um grupo controle.

Na tabela 37, estão apresentadas também as taxas de perdas gestacionais para as gestações decorrentes dos cruzamentos intra ou interespécies. Observa-se que as taxas não diferiram ( $p < 0,05$ ) entre si, sendo de 29,63% e 26,77%, respectivamente. É importante salientar que as perdas gestacionais aqui apresentadas incluem os dados de parto do Experimento II, bem como as taxas de perdas gestacionais dos Experimentos III e IV, avaliadas dentro de um período mínimo de 128 e máximo de 205 dias de gestação. Dessa forma, estão incluídas nessas perdas, casos de morte embrionária e morte fetal ou aborto.

A morte embrionária é definida como a perda que ocorre da fertilização até os 40 dias de gestação, o que corresponde ao momento de transição do estágio embrionário para o estágio fetal de desenvolvimento do conceito equino. A partir desse momento, as perdas passam a ser classificadas como morte fetal ou aborto (Ginther 1992).

Ao utilizarem o exame ultrassonográfico sistemático, entre os dias 11 e 50 da gestação, observou-se que as taxas de morte embrionária em éguas variaram de 5% a 24% (Chevalier e Palmer, 1982; Ginther *et al.*, 1985; Woods *et al.*, 1987). De maneira similar, as taxas de aborto em éguas variaram de 7 a 12% (Platt, 1973; Irwin, 1975; Sullivan *et al.*, 1975; Chevalier e Palmer, 1982).

De maneira geral, as taxas de perdas gestacionais de éguas cobertas por monta natural com garanhões aqui apresentadas,

foram similares às obtidas por Boeta e Zarco (2005), de 21,4%, porém superam às demonstradas por Nishikawa (1959) e Vanderwall (2011), de 7 e 15%; Von Lepel (1975), de 8,9%; Garg e Manchanda (1986), de 7,8%; Ginther (1992), de 7 a 16%; Papa *et al.* (1998), de 13,3%; Morris e Allen (2002), de 17,3%; Rabelo (2009), de 9,06% e Boeta e Zarco (2010), que obtiveram taxa de morte embrionária de 9,1%, e taxa de aborto de 5%. Não foi possível identificar a causa para a taxa de perda gestacional elevada aqui observada, uma vez que as fêmeas apresentavam-se com bom escore de condição corporal e ao exame ginecológico aptas à reprodução, sem comprometimento grave da função uterina ou ovariana. Talvez o baixo número amostral tenha contribuído para esse resultado.

Com relação às perdas que envolveram os cruzamentos interespécies (jumento x égua), os resultados da presente avaliação mostram-se inferiores aos obtidos por Jordão *et al.* (1954), que observaram uma taxa de parto de 35,9%; e por Boeta e Zarco (2005), quando obteve-se uma taxa de perda gestacional de 36,8%. Porém, apresentam-se similares aos observados por Boeta e Zarco (2010) que apresentaram uma taxa de perda gestacional de 30%. Os resultados do presente trabalho foram, no entanto, superiores aos obtidos por Garg e Manchanda (1986) - taxa de aborto de 10,4%; Ferreira (1993) - morte embrionária de 5,5% e por Rossi (2008), quando observou-se uma taxa de perda gestacional de 8,51%.

Apesar de alguns trabalhos terem demonstrado menores taxas de concepção e maiores taxas de perda em éguas cobertas ou inseminadas por reprodutores asininos (Jordão *et al.*, 1954; Garg e Manchanda, 1986; Boeta e Zarco, 2005; Díaz *et al.*, 2009 e Boeta e Zarco, 2010), isso não foi demonstrado na presente avaliação, quando foram detectadas taxas de concepção por ciclo e de perdas gestacionais similares nos cruzamentos que envolveram garanhões ou



jumentos. Há que se enfatizar, no entanto, que as éguas dos Experimentos III e IV não foram acompanhadas até o parto. Quando isto aconteceu (Experimento II), as perdas gestacionais envolvendo cruzamentos interespecies foram de 33,09%, sendo para o bimestre fevereiro/março de 52,38% (22/42), muito acima da obtida quando dos cruzamentos intraespecies, de 29,63%.

#### 5.5.2. Efeito da categoria reprodutiva sobre as perdas gestacionais de éguas envolvidas em cruzamentos intra ou interespecies

As éguas podem ser divididas de acordo com a sua categoria reprodutiva em: potras (éguas jovens que nunca conceberam), éguas solteiras (vazias na estação reprodutiva anterior), éguas paridas (com potro ao pé), e no “cio do potro” (no primeiro cio pós-parto). Cada categoria possui as suas particularidades e influências sobre a eficiência reprodutiva.

Assim, os dados das fêmeas utilizadas nos Experimentos II, III e IV foram aqui agrupados com o objetivo de avaliar o efeito da categoria reprodutiva sobre as taxas de perdas gestacionais nos cruzamentos intra e interespecies, como demonstrado na tabela 38.

Observa-se, na referida tabela, que a categoria reprodutiva não interferiu ( $p > 0,05$ ) nas taxas de perdas gestacionais. Vale ressaltar que na categoria de potras, não foi possível avaliar seu efeito no grupo de fêmeas submetidas à cruzamentos intraespecies, visto que nenhuma fêmea desta categoria foi submetida à monta natural com garanhões.

Segundo Kenney (1978), nenhuma categoria de égua (lactante, potra ou solteira) tem sido identificada como especialmente susceptível à perda embrionária. No entanto, éguas lactantes têm incidência relativamente maior de morte embrionária quando cobertas no

“cio do potro”, o que não se verifica quando as cobrições são realizadas nos cios subsequentes (Merkt, 1966; McKinnon *et al.*, 1988; El-Wishy *et al.*, 1990; Morris e Allen 2002).

Na presente avaliação, as taxas obtidas para éguas cobertas ou inseminadas no “cio do potro” envolvendo os cruzamentos intra e interespecies, foram de 100% (1/1) e 21,28% (10/47), respectivamente. Enfatiza-se que o primeiro grupo apresentou apenas 1 animal, o qual teve a gestação interrompida. Talvez a heterogeneidade dos grupos não tenha possibilitado evidenciar possíveis diferenças.

Assim como no presente estudo, Woods *et al.* (1987), Duarte *et al.* (2002) e Blanchard *et al.* (2004), trabalhando com cruzamentos intraespecies, não encontraram diferenças nas perdas embrionárias entre éguas cobertas no “cio do potro” ou no cio subsequente. No entanto, outros estudos evidenciaram maiores taxas de perda em éguas cobertas no “cio do potro” (Merkt, 1966; Bell e Briston, 1987; Morris e Allen, 2002; Allen *et al.*, 2007), sendo responsabilizadas as anormalidades do ambiente uterino, a involução retardada do útero e as endometrites persistentes como os fatores que mais contribuem para essas perdas (Ball, 1993; Grunert *et al.*, 2005).

Ainda com relação aos cruzamentos intraespecies, Chevalier e Palmer (1982), estudaram a morte embrionária a partir do 14º dia da ovulação, num total de 7438 exames realizados em 4688 éguas de diferentes raças e condições reprodutivas. Os autores não observaram diferenças entre as categorias, sendo que éguas cobertas no “cio do potro” apresentaram 11,9% de perdas (n=193); éguas lactantes apresentaram 13,3% (n=448), e as solteiras, 11,5% (n=446). Os autores concluíram que a categoria reprodutiva da égua, no momento da cobertura, não interferiu na taxa de morte embrionária. Já Morris e Allen (2002) observaram maior taxa de perda gestacional

para éguas cobertas no “cio do potro” em relação às cobertas nos estros subsequentes.

Em estudo recente, Rabelo (2009) avaliou as taxas de perdas gestacionais concernentes à condição reprodutiva das fêmeas, sendo de 5,77%, 9,82% e 9,61% para as fêmeas nulíparas, pluríparas não lactantes e pluríparas lactantes, respectivamente. Esses resultados não evidenciaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre as categorias reprodutivas. Observações similares foram relatadas por Woods *et al.* (1987) em éguas de diferentes raças, por Chevalier-Clément (1989) em fêmeas PSI, por Souza *et al.* (2001) e por Duarte *et al.* (2002), em éguas quarto de milha.

Demandas energéticas para a lactação e/ou alterações hormonais associadas com a mesma podem afetar a incidência de perdas gestacionais (Vanderwall e Newcombe, 2007). Van Niekerk e van Niekerk (1998) observaram concentrações de progesterona inferiores em éguas lactantes em relação às não lactantes. No entanto, Oliveira *et al.* (1986) relataram incidência de perda gestacional de 6,4% em éguas não lactantes e de 7,9% nas lactantes, não havendo diferença estatística entre as duas categorias. Já Merkt (1986) avaliando éguas Puro

Sangue Inglês durante 10 anos consecutivos, observou 8,4% de morte embrionária durante os primeiros 60 dias de gestação, em 11098 éguas. Observou ainda, uma maior taxa de perda nas éguas lactantes quando comparadas às éguas solteiras. Na presente avaliação, como já mencionado, não foram evidenciadas ( $p>0,05$ ) diferenças nas taxas de perdas gestacionais entre as categorias.

Para Waelchli (1990) e Kossin (1995) há uma importante relação entre a categoria reprodutiva e a fertilidade potencial de uma égua, estando a redução da fertilidade diretamente relacionada ao número de anos consecutivos em que a fêmea não concebeu.

Neste sentido, Hemberg *et al.* (2004) observaram maiores taxas de perdas gestacionais para éguas solteiras (15,3%) e éguas que reabsorveram o embrião ou abortaram na estação de monta anterior (20,4%), em relação às observadas em potras (7,8%) e éguas com “potro ao pé” (12,2%). Segundo os autores, estas perdas podem estar relacionadas, supostamente, à idade das éguas, uma vez que uma maior proporção de éguas com problemas reprodutivos encontravam-se na categoria de éguas mais velhas.

Tabela 38. Efeito da categoria reprodutiva sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas com gestações intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação.

Tipo de Gestação	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Égua Solteira	Égua Parida	Égua no “Cio do Potro”	
Cruzamento Intraespécie	-	20,00 (2/10)	31,25 (5/16)	100,00 (1/1)	29,63 (8/27)
Cruzamento Interespécie	30,77 (4/13)	23,29 (17/73)	33,85 (22/65)	21,28 (10/47)	26,77 (53/198)
Total	30,77 (4/13)	22,89 (19/83)	33,33 (27/81)	22,92 (11/48)	27,11 (61/225)

5.5.3. Efeito do mês ou do bimestre da ovulação sobre as taxas de perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies.

As perdas gestacionais das éguas avaliadas nos Experimentos II, III e IV, foram distribuídas segundo o mês e bimestre de ocorrência da ovulação, como apresentado nas tabelas 39 e 40.

Observa-se na tabela 39 que no grupo de fêmeas submetidas à cruzamentos intraespécies (cavalo x égua), as taxas de perda não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre os meses da estação de monta. No entanto, com relação às gestações interespécies (jumento x égua), houve influência ( $p < 0,05$ ) do mês da estação. Os dados apresentados demonstram que os meses de janeiro, fevereiro e março, que não diferiram ( $p > 0,05$ ) do mês de outubro, responderam pelas maiores taxas de perdas gestacionais, com valores de 35,71%, 47,62% e 50,00%, respectivamente. Os meses de outubro, novembro e dezembro não diferiram ( $p < 0,05$ ) entre si, e apresentaram taxas inferiores de perdas gestacionais, com valores de 27,27%, 15,38% e 15,25%.

Quando as perdas foram agrupadas considerando-se os bimestres de ocorrência da ovulação, dentro da estação de monta (tabela 40), observou-se que para o grupo de fêmeas com gestações interespécies, a taxa de perda gestacional foi superior ( $p < 0,05$ ) no bimestre fevereiro/março, quando comparada aos bimestres outubro/novembro e dezembro/janeiro, os quais não diferiram ( $p < 0,05$ ) entre si. Para os três bimestres citados, as taxas de perdas gestacionais

foram de 17,46%, 21,84% e 47,92%, respectivamente.

No grupo correspondente às gestações intraespécies, as taxas não diferiram ( $p < 0,05$ ) quando da avaliação mês a mês (tabela 39), nem quando os dados foram agrupados por bimestre de ocorrência da ovulação (tabela 40). Possivelmente, o baixo número de ciclos avaliados neste grupo não possibilitou detectar-se eventuais diferenças.

As perdas gestacionais em éguas com gestações intraespécies, incluindo a morte embrionária e a morte fetal ou aborto, situam-se entre 5% e 24% (Platt, 1973; Irwin, 1975; Sullivan *et al.*, 1975; Chevalier e Palmer, 1982; Ginther *et al.*, 1985; Woods *et al.*, 1987). Com relação às gestações interespécies de éguas cobertas por jumentos, as perdas têm variado de 5,5% a 36,8% (Jordão *et al.*, 1954; Garg e Manchanda, 1986; Ferreira, 1993; Boeta e Zarco, 2005; Rossi, 2008; Boeta e Zarco, 2010).

Assim, de uma maneira geral, as taxas de perdas gestacionais exibidas na presente dissertação (tabelas 39 e 40) estão em conformidade com a literatura, com exceção das taxas correspondentes aos meses de fevereiro e março separadamente, bem como quando foram agrupados por bimestre, as quais apresentaram-se muito superiores às encontradas na literatura consultada.

Na espécie equina, a atividade reprodutiva é regulada por três fatores básicos: fotoperíodo, nutrição e temperatura. No entanto, o fator primário no controle da atividade ovariana sazonal é o número de horas luz/dia (Nishikawa, 1959).

Tabela 39. Efeito do mês da ovulação sobre a taxa de perda gestacional de éguas com gestações intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação

Tipo de Gestação	Mês de Ocorrência da Ovulação						Total
	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	
Intraespécie	66,67 (2/3)	0,00 (0/2)	16,67 (1/6)	14,29 (1/7)	37,50 (3/8)	100,00 (1/1)	29,63 (8/27)
Interespécie	27,27 (3/11) <sup>ab</sup>	15,38 (8/52) <sup>b</sup>	15,25 (9/59) <sup>b</sup>	35,71 (10/28) <sup>a</sup>	47,62 (20/42) <sup>a</sup>	50,00 (3/6) <sup>a</sup>	26,77 (53/198)
Total	35,71 (5/14) <sup>ab</sup>	14,81 (8/54) <sup>b</sup>	15,38 (10/65) <sup>b</sup>	31,43 (11/35) <sup>ab</sup>	46,10 (23/50) <sup>a</sup>	57,14 (4/7) <sup>a</sup>	27,11 (61/225)

<sup>a,b</sup> Médias na linha, acompanhadas por letras diferentes, diferem entre si ( $p < 0,05$ )

Tabela 40. Efeito do bimestre de ocorrência da ovulação, sobre a taxa de perda gestacional de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies, avaliadas da concepção ao período mínimo de 120 dias de gestação

Tipo de Gestação	Bimestre de Ocorrência da Ovulação			Total
	Outubro/Novembro	Dezembro/Janeiro	Fevereiro/Março	
Intraespécie	40,00% (2/5)	15,38% (2/13)	44,44% (4/9)	29,63% (8/27)
Interespécie	17,46% (11/63) <sup>b</sup>	21,84% (19/87) <sup>b</sup>	47,92% (23/48) <sup>a</sup>	26,77% (53/198)
Total	19,12% (13/68) <sup>a</sup>	21,00% (21/100) <sup>b</sup>	47,37% (27/57) <sup>a</sup>	27,11% (61/225)

<sup>a,b</sup> Médias na linha, acompanhadas por letras diferentes, diferem entre si ( $p < 0,05$ )

A temperatura ambiente e a condição nutricional podem modificar, mas nunca alterar o efeito básico da luz (Greenhoff e Kenney, 1975). Mesmo durante a estação de monta há variações quanto à atividade reprodutiva dos animais, que podem refletir variações na eficiência reprodutiva dos mesmos (Valle, 2005).

Alguns estudos avaliaram o efeito da estacionalidade reprodutiva sobre a fertilidade de éguas (Trum, 1950; Quinlan *et al.*, 1951; Osborne, 1968; Ginther, 1974; Resende, 1974; Palhares, 1989; Witte, 1989; Valle, 2005). No entanto, poucos buscaram estudar seu efeito sobre as taxas de perdas gestacionais.

Neste sentido, Moberg (1968) quando do acompanhamento de seis estações de monta,

verificou maior incidência de perdas gestacionais em éguas cobertas por garanhões no início da estação em relação àquelas cobertas ao final. Segundo o autor, isso pode ser atribuído à influência da luminosidade e temperatura sobre a sobrevivência embrionária, uma vez que as condições nutricionais do experimento foram controladas. De maneira similar, Scherbarth (1980) citado por Ball (1993) obteve maiores taxas de perdas embrionárias e fetais no início da estação de monta (7,7%), em relação ao seu final (2,7%).

Como já descrito anteriormente na presente dissertação, maiores taxas de perda têm sido descritas para éguas cobertas ou inseminadas por jumentos em relação àquelas cobertas ou inseminadas com o sêmen de garanhões (Jordão *et al.*, 1954; Garg e Manchanda,

1986; Boeta e Zarco, 2005 e Boeta e Zarco, 2010). O motivo talvez sejam as menores quantidades de eCG produzidas nessas gestações híbridas, em função do desenvolvimento incipiente dos cálices endometriais.

Na égua gestante, em resposta à secreção de eCG, o corpo lúteo primário aumenta em tamanho (Squires *et al.*, 1974; Bergfelt *et al.*, 1989), eleva a produção de progesterona e inicia a produção de estradiol (Daels *et al.*, 1991). Nos ovários, além do estímulo luteotrópico ao corpo lúteo primário, a eCG induz a formação dos chamados corpos lúteos secundários, ou ainda, acessórios (Squires *et al.*, 1974). Esse efeito biológico é determinado pela ligação da eCG aos receptores de LH.

Dessa forma, a eCG tem sido responsabilizada pelo aumento das concentrações plasmáticas de progesterona observada após 35 a 40 dias de gestação (Allen, 1984, 1987; Bergfelt *et al.*, 1989). Entretanto, nem todas as éguas gestantes formam corpos lúteos secundários, e mesmo naquelas que os formam, existe grande variabilidade no que diz respeito ao seu número e dia de formação, sugerindo não se tratar o evento, de um processo essencial para a manutenção da gestação. Acosta (2008) confirmou que éguas gestando embriões muares, mesmo sob menores concentrações circulantes de eCG, formaram corpos lúteos acessórios. No entanto, ocorreram mais tardiamente e em menor número.

Mesmo não sendo fundamental para a manutenção da gestação, não se pode negar a importância da formação dos corpos lúteos secundários e de sua fonte extra de progesterona. Desta forma, pode-se afirmar que, sem dúvida, contribuem para a probabilidade de êxito na gestação (Allen, 1984; Daels *et al.*, 1998).

A principal fonte de progesterona nos primeiros 50 dias da gestação é o corpo lúteo primário, o qual mantém sua produção

hormonal até os dias 120 a 150 da gestação. Os corpos lúteos acessórios, através do estímulo luteotrópico contínuo da eCG, contribuem para a produção de progesterona, que pode chegar à concentrações de 25 ng/ml ou mais. A concentração sérica de progesterona decresce progressivamente até os dias 100 a 150 da gestação, momento em que os cálices endometriais são destruídos e cessa a fonte de eCG. Como consequência, ocorre regressão do corpo lúteo primário e dos corpos lúteos secundários (Murphy e Martinuk, 1991). Os folículos que ovularão ou sofrerão luteinização, resultando na formação dos corpos lúteos secundários, desenvolvem-se antes da formação da cinta coriônica, demonstrando-se, assim, que a foliculogênese independe da secreção de eCG (Allen, 1975; Squires e Ginther, 1975).

No entanto, gestações híbridas são levadas a termo, mesmo com a destruição prematura dos cálices endometriais e a menor produção de eCG verificada. Boeta e Zarco (2005) observaram que um considerável número de éguas cobertas com jumentos mantiveram a gestação normalmente, apesar das concentrações séricas basais de eCG e das menores concentrações de progesterona mensuradas. O mesmo pode ser dito para a presente avaliação, quando éguas apresentando gestações híbridas demonstraram taxas de perdas gestacionais consideradas aceitáveis nos bimestres de outubro/novembro e dezembro/janeiro.

Allen (1975b) quantificou o tamanho ovariano, o número de folículos e a taxa de ovulação das éguas durante a gestação, de forma a avaliar a influência da estacionalidade reprodutiva na égua sobre a atividade ovariana. Sendo o estudo conduzido no hemisfério norte, as éguas que conceberam entre os meses de abril e julho, apresentaram alta atividade ovariana aos 40 dias de gestação, cujo pico coincidiu com os níveis máximos de eCG circulantes. No entanto, a atividade ovariana foi mantida

após a queda relativa das concentrações de eCG. Já as fêmeas que conceberam entre os meses de julho e fevereiro, não apresentaram incremento da atividade ovariana pelo aumento das concentrações de eCG. Concluiu-se então que esta molécula atua de forma sinérgica com as gonadotrofinas de origem hipofisária, sendo estas responsáveis pelo estímulo primário para a atividade ovariana nas éguas gestantes.

Na mesma linha de pesquisa, Allen (1984) sugeriu que o LH de origem hipofisária poderia suportar a função lútea, na ausência de eCG, em éguas com gestações interespecies com jumentos, possibilitando assim a manutenção da gestação. Segundo Boeta e Zarco (2005), éguas que concebem no início da estação de monta passam pelo primeiro trimestre da gestação em uma época do ano em que não há supressão da liberação de LH. Assim, a sua presença seria suficiente para prover um estímulo luteotrópico capaz de manter as concentrações de progesterona acima de um limiar necessário para a manutenção da gestação, em éguas gestando embriões muares.

Esta proposta está de acordo com um estudo conduzido por Snyder *et al.*, (1979), quando detectou-se maior concentração de LH na penúltima, em relação à última ovulação da estação de monta, enfatizando o efeito sazonal sobre as concentrações de LH. Ainda, o efeito sazonal do LH foi demonstrado quando da detecção de menores concentrações de LH associadas à ondas foliculares menores na estação anovulatória em relação às ondas apresentadas no período de transição de primavera (Ginther *et al.*, 2003b). Além disso, foram detectadas menores concentrações de LH em ondas foliculares no início da transição de primavera, com folículos de 21 mm, do que durante o final da transição, com folículos de 27 mm (Donadeu e Ginther, 2003).

No estudo de Boeta e Zarco (2005), nenhuma das éguas inseminadas com jumentos, que apresentaram perda gestacional, exibiram concentrações de eCG e progesterona que indicavam ser a causa dos abortos uma deficiência luteal por insuficiência de eCG. Em três fêmeas acompanhadas, as concentrações de progesterona próximas à ocorrência do aborto apresentavam-se similares às encontradas nas éguas que levaram a gestação a termo. Nos outros quatro casos avaliados, o declínio das concentrações de progesterona foi abrupto, sugerindo a ocorrência de um processo luteolítico por liberação de PGF2 $\alpha$ , e não disfunção lútea secundária ao baixo aporte gonadotrófico.

Segundo Allen (2001), após o 40º dia da gestação a eCG protege éguas gestantes do efeito luteolítico da PGF2 $\alpha$ . Assim, a baixa produção e secreção de eCG nas éguas com gestações interespecies não conferiria esse tipo de proteção à essas fêmeas, tornando-as mais susceptíveis à perda gestacional. Para confirmar tal hipótese, Cantón (2008) administrou luteolítico à éguas gestantes de embriões muares ou equinos, aos 90 dias de gestação. As concentrações de progesterona e de eCG foram mensuradas antes e após a administração do luteolítico. Os resultados demonstraram uma correlação positiva ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de eCG antes da administração, e as concentrações de progesterona 48 horas após o tratamento. Apenas um aborto foi observado em uma égua gestando embrião muar, concluindo-se que as éguas com gestações híbridas são mais susceptíveis ao efeito luteolítico da PGF-2 $\alpha$ .

Buscando avaliar a importância da eCG na manutenção da gestação, Acosta (2008) comparou as perdas gestacionais de éguas que conceberam no início e no final da estação de monta. Para o estudo, utilizou éguas com gestações híbridas, que apresentam naturalmente uma deficiência na produção de eCG. No entanto, a autora não encontrou diferenças ( $p > 0,05$ ) quanto às

perdas gestacionais em concepções ocorridas no início ou ao final da estação reprodutiva, nem tampouco observou-se diferenças ( $p > 0,05$ ) nas concentrações de progesterona e eCG entre os dois grupos. Há que se considerar, no entanto, o reduzido número de fêmeas utilizado pela autora.

De maneira contrária, na presente metanálise, assim como observado no experimento II da presente dissertação, houve influência ( $p < 0,05$ ) do mês da concepção sobre as taxas de perdas gestacionais, com valores expressivos no último bimestre da estação de monta (fevereiro/março). Esses achados fortalecem a hipótese de que a eCG substitui a função luteotrófica exercida normalmente pelo LH em éguas que concebem no início da estação de monta. Assim, as éguas com gestações interespécies, que já apresentam produção e secreção de eCG, seriam mais susceptíveis à ocorrência de perdas gestacionais quando cobertas ou inseminadas ao final da estação reprodutiva, quando há redução nas concentrações de LH, e conseqüentemente, menores níveis plasmáticos de progesterona.

Arias (2011) em estudo recente, corrobora essas afirmações. A importância do LH hipofisário ficou evidente quando a autora, ao administrar um antagonista do GnRH à dois grupos de éguas gestantes (G1 – embriões equinos; G2 – embriões muares), observou, no segundo grupo, uma taxa de perda gestacional de 62,5%, associada à um completo desbalanço no desenvolvimento folicular, com redução gradual do número de folículos maiores que 20 mm, até sua supressão completa entre as semanas 9,5 e 12,5 da gestação, o que não foi verificado no primeiro grupo de éguas. Assim, a deficiência natural de eCG nas fêmeas que gestam muares, associada à inibição do LH proporcionada pela administração de um antagonista do GnRH, (criando uma situação similar à observada em uma égua ao final da estação de monta) torna-as mais susceptíveis à perda gestacional, o que pode justificar a

maior taxa de perda observada nas fêmeas cobertas ou inseminadas no período citado.

Sendo assim, éguas que concebem no início da estação de monta passam a primeira metade da gestação em uma época do ano quando as concentrações de LH não se encontram deprimidas (Freedman *et al.*, 1979; Daels *et al.*, 1998 e Allen, 2001). Talvez, durante este período do ano, o LH hipofisário seja suficiente para proporcionar os níveis de progesterona necessários para manter a gestação, mesmo na ausência de eCG (Boeta e Zarco, 2005). Assim, é possível que essa seja a justificativa para as maiores taxas de perdas gestacionais apresentadas no bimestre fevereiro/março na presente dissertação. A tabela 40 mostra que quase 50% das éguas tiveram sua gestação interrompida nesse período. Ainda, observa-se que, numericamente, as taxas de perdas gestacionais foram se elevando no decorrer da estação de monta.

Mais estudos se fazem necessários para determinar a importância da eCG na manutenção da gestação em éguas envolvidas na produção de muares. Se confirmada a hipótese de que as éguas que concebem ao final da estação de monta realmente apresentam maiores taxas de perdas gestacionais pelo menor aporte de LH hipofisário, associado às menores concentrações de eCG, talvez seja interessante eliminar o último bimestre da estação de monta nas fazendas produtoras de muares, especialmente no que diz respeito aos cruzamentos interespécies. As fêmeas a serem cobertas nesta etapa seriam assim submetidas à cruzamentos intraespécies visando produzir as potras envolvidas na reposição do plantel. Desta forma, eliminar-se-iam os custos advindos do prolongamento indevido da estação de monta, além de reduzir os prejuízos decorrentes das perdas gestacionais resultantes de éguas submetidas à cruzamentos interespécies e que concebem ao seu final.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente dissertação permitem concluir que:

- a. A equação de regressão gerada pela mensuração sistemática das vesículas embrionárias oriundas de gestações interespécies, permite a determinação aproximada da idade gestacional, dos 10 aos 37 dias, sem que se conheça a data da ovulação da fêmea avaliada;
- b. O desenvolvimento embrionário muar apresentou um crescimento mais acelerado no início da gestação em relação ao registrado pela literatura para o de embriões equinos;
- c. O genótipo paterno não exerceu efeito sobre a duração da gestação nem sobre a relação do sexo dos produtos em éguas submetidas à cruzamentos interespécies (égua x jumento), sendo os valores similares aos observados por éguas envolvidas em cruzamentos intraespécies (égua x garanhão), amplamente descritos na literatura mundial;
- d. A duração da gestação de muares variou de  $337,00 \pm 3,47$  a  $346,12 \pm 2,04$  dias, não diferindo dos valores normalmente encontrados em gestações de equinos;
- e. A proporção de produtos machos foi a mesma de produtos fêmeas nas gestações interespécies;
- f. O sêmen asinino manteve seu poder fecundante por até 24 horas, quando diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose e resfriado a  $5^{\circ}\text{C}$  em contêiner proposto por Palhares (1997), respondendo por taxas de concepção satisfatórias;
- g. O diluidor glicina-gema de ovo pode ser utilizado como alternativa para a diluição do sêmen total de asininos, respondendo por taxas de gestação similares às obtidas com o diluidor à base de leite em pó desnatado;
- h. O diluidor de lactose-gema de ovo não é recomendado para a diluição do sêmen fracionado de jumentos;
- i. Existe uma grande variação individual entre os jumentos no que diz respeito à fertilidade das éguas inseminadas ou cobertas por eles;
- j. A categoria reprodutiva das éguas, quando do uso do sêmen a fresco diluído, ou diluído e resfriado de asininos, influenciou as taxas de concepção ao primeiro ciclo e de concepção por ciclo, com resultados superiores para a categoria de potras e éguas no “cio do potro”, em relação às categorias de éguas solteiras e paridas.
- k. O manejo reprodutivo adotado no presente trabalho, incluindo a coleta fracionada ou total do sêmen, associada à diluição em diluidor de leite em pó desnatado-glicose previamente ao resfriamento à  $5^{\circ}\text{C}$ , é indicado para procedimentos de rotina nas fazendas comerciais envolvidas na produção de muares, respeitando-se a individualidade dos reprodutores, com bons índices de fertilidade;
- l. As taxas de perdas gestacionais, quando de cruzamentos intra ou interespécies, até os 205 ou 194 dias de gestação, respectivamente, foram superiores para as fêmeas cobertas por monta natural com garanhões, em relação àquelas cobertas por jumentos;
- m. Entretanto, quando acompanhadas até o parto, as éguas submetidas à cruzamentos interespécies com jumentos no bimestre final da estação de monta (fevereiro/março), apresentaram perdas gestacionais superiores às observadas nas que conceberam nos bimestres iniciais (outubro/novembro e dezembro/janeiro).



## 7. PROPOSTAS FUTURAS

- a. Comparar, de forma temporal, o desenvolvimento embrionário mular e equino, buscando caracterizar possíveis diferenças e particularidades de cada espécie;
- b. Acompanhar, em éguas com gestações interespecies, todo o período da gestação, através de avaliações quinzenais, ou no mínimo mensais, de modo a caracterizar a fase crítica de perda gestacional nessas fêmeas. Isso possibilitará, em estudos futuros, a intervenção com protocolos hormonais ou medidas preventivas que reduzam o ônus advindo das perdas;
- c. Comparar, em um maior número de éguas submetidas à cruzamentos interespecies, a incidência de perda gestacional associada ao mês da concepção. Se reafirmada a maior taxa de perda embrionária ou fetal em fêmeas que concebem ao final da estação de monta em relação ao seu início, propor a redução de seu período efetivo, reduzindo-se os custos e prejuízos advindos das perdas;
- d. Confrontar os dados de parto das éguas utilizadas nos experimentos III e IV da presente dissertação, com as taxas de perdas gestacionais observadas, quando da sua avaliação até o período máximo de 194 dias pós-ovulação. Vale ressaltar, que tal avaliação, quando realizada no experimento II do presente trabalho, resultou na observação de uma grande diferença ( $p < 0,05$ ) entre as taxas de perdas gestacionais detectadas ao final da estação de monta (8,51%) e ao parto (33,09%);
- e. Propor como ferramenta de manejo a cobrição ou inseminação das éguas que parem ou que se apresentem vazias até o final da estação de monta com garanhões, visando a produção de potras a serem utilizadas para a reposição do plantel, nas fazendas envolvidas com a produção de muare.
- f. Estabelecer os padrões de secreção de LH endógeno nos meses finais da estação de monta nas éguas apresentando gestações interespecies, na presença de baixas concentrações de eCG apresentadas por estas fêmeas e já detectadas pela literatura;
- g. Finalmente, estabelecer a relação entre os padrões de secreção do LH, da progesterona e do eCG, e a participação de cada um e/ou de todos eles nas perdas embrionárias ou fetais, em éguas submetidas à cruzamentos interespecies, ao final da estação de monta, diante da redução progressiva do número de horas de luz/dia.

## 8. REFERÊNCIAS

- ABD-ELNAEIM, M.M.M.; LEISER, R.; WILSHER, S. *et al.* Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. *Placenta*, v.27, n.11-12, p.1103-1113, 2006.
- ACOSTA, M.B. *Efecto de la época del ano sobre la funcionalidad de lãs copas indometriales y la secreción de eCG em yeguas utilizadas para la producción de mulas.* 2008. Tesis – Universidad Nacional Autónoma de Mexico, Mexico-DF.
- ACOSTA, T.J.; MIYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Anim. Reprod. Sci.*, v.82, p.127–140, 2004.
- ADAMS, A.P.; ANTCZAK, D.F. Ectopic transplantation of equine invasive trophoblast. *Biol. Repr.*, v.64, n.3, p.753-763, 2001.
- ADAMS, G. P.; KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.445-454, 1987.
- AKCAY, E.; REILAS, T.; ANDERSSON, M. *et al.* Effect of seminal plasma fractions on stallion sperm survival after cooled storage. *J. Vet. Med.*, v.53, n.9, p.481-485, 2006.
- ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A. *et al.* Estrutura da membrana. In: ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A. *et al. Fundamentos da biologia celular: uma introdução à biologia molecular da célula.* Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. p.354-378.
- ALBRECHT, B. A., DAELS, P. F. Immunolocalization of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase, 17,20 lyase and cytochrome P450 aromatase in the equine corpus luteum of dioestrus and early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, v.111, n.1, p.127–133, 1997.
- ALEXANDER, S. L.; IRVINE, C. H. G. Control of onset of the breeding season in the mare and its artificial regulation by progesterone treatment. *J. Reprod. Fertil.*, suppl. 44, p.307-318, 1991.
- ALJARRAH, A. H. *Methods to induce earlier onset of cyclicity in transitional mares.* 2004. 65f. Dissertation - Graduate Faculty of the Louisiana, State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, USA.
- ALKMIN, D. V. *Efeito da fração do ejaculado e do método de conservação sobre as características físicas do sêmen suíno e a fertilidade de fêmeas.* 2010. 228f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- ALLEN, W.E. Fertility in pony mares after post ovulation service. *Equine. Vet. J.*, v. 13, n. 2, p.134-135, 1981.
- ALLEN, W. E. Pregnancy failure induced by human chorionic gonadotrophin in pony mares. *Vet. Rec.* v.96, n.4, p.88-90, 1975a.
- ALLEN, W. R. Endocrinology of early pregnancy in the mare. *Equine. Vet. J.*, v.2, n.2, p.64-70, 1970.
- ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*, v.121, n.4, p.513-527, 2001.
- ALLEN, W. R. Hormonal control of early pregnancy in the mare. *Anim. Reprod. Sci.*, v.7, n.1-3, p.283-304, 1984.
- ALLEN, W. R. Immunological aspects of endometrial cup reaction. In: EDWARDS, R.G.; HOWE, C.W.S.; JOHNSON, M.H. (Eds). *Immunobiology of trophoblast.* Cambridge: University, 1975b. p.217.
- ALLEN, W. R. Immunological aspects of the equine endometrial cup reaction and the effect of xenogeneic pregnancy in horses and donkeys. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.31, p.57-94, 1982.
- ALLEN, W. R. Progesterone and the pregnant mare: unanswered chestnuts editorial;comment. *Equine Vet. J.*, v. 25, n.2, p.90-91, 1993.
- ALLEN, W. R. The immunological measurement of pregnant mare serum gonadotrophin. *J. Endocrinol.*, v.43, n.4, p.593-598, 1969.
- ALLEN, W.R. The influence of fetal genotype upon endometrial cup development and PMSG and pro- gestagen production in equids. *J Reprod Fertil*, suppl.23, p.405-413, 1975b.

- ALLEN, W. R. The Physiology of early pregnancy in the mare. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 2000. *AAEP Proceed.*, v.46. p.338-354, 2000.
- ALLEN, W. R.; BROWN, L.; WRIGHT, M. *et al.* Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. *Equine Vet. J.*, v.39, n.5, p.438-445, 2007.
- ALLEN, W.R.; HAMILTON, D.W.; MOOR, R.M. The origin of equine endometrial cups. II Invasion of the endometrium by trophoblast. *Anat. Rec.*, v.117, n.2, p.475-501, 1973.
- ALLEN, W.R.; KYDD, J.H.; ANTCZAK, D.F. Interspecies and extraspecies equine pregnancies. In: MCKINNON, A. O., VOSS, J. L. (Eds.). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.533-53.
- ALLEN, W.R.; KYDD, J.H.; BOYLE, M.S., ANTCZAK, D. F. Between-species transfer of horse and donkey embryos: A valuable research tool. *Equine Vet. J.*, suppl 3, p.53-62. 1985.
- ALLEN, W.R.; KYDD, J.H.; BOYLE, M.S.; ANTCZAK, D.F. Extraspecific donkey-in-horse pregnancy as a model of early fetal death. *J Reprod Fertil.*, suppl. 35, p.197-209, 1987.
- ALLEN, W. R.; MOOR, R. M. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *J. Reprod. Fertil.*, v.29, n.2, p.313-316, 1972.
- ALLEN, W. R.; STEWART, F. Equine chorionic gonadotropin. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea e Febiger.1993. p. 81-96.
- ALLEN, W. R.; STEWART, F. Equine placentation. *Reprod. Fertil. Develop.*, v.13, n.7/8, p.623-634, 2001.
- ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; TURNBULL, C. *et al.* Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction*, v.123, n.3, p.445-453, 2002a.
- ALLEN, W. R.; WILSHER, S; STEWART, F. *et al.* The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. *J. Endocrinol.*, v.172, n.2, p.237-246, 2002b.
- ALM, K.; PELTONIEMI, O.A.T.; KOSKINEN, E.; ANDERSON, M. Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. *Reprod. Domest. Anim.*, v.41, n.3, p.210-213, 2006.
- ALTHOUSE, G.C.; WILSON, M.E.; KUSTER, C. *et al.* Characterization of lower temperature storage limitations of fresh-extended porcine semen. *Theriogenology*, v.50, n.4, p.535-543, 1998.
- AMANN, R. P.; GRAHAM, J. K. Spermatozoal function. In: MCKINNON A. O., VOSS, J. L. (Eds.). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 715-745.
- AMANN, R. P.; PICKETT, B. W. Principle of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *J. Equine Vet. Sci.*, v.7, n.3, p.145-173, 1987.
- AMOROSO, E. C. Placentation. In: PARKES, A.S. (Ed.), *Marshall's physiology of reproduction*. Longmans: Green and Co Ltd, 1952. p. 127-311.
- AMOROSO, E. C.; HANCOCK, J. L.; ROWLANDS, I. W. Ovarian activity in the pregnant mare. *Nature*, v.161, p.355-356, 1948.
- ANDRADE, L. S. Endocrinologia: o funcionamento hormonal na égua e no garanhão. In:\_\_\_\_. *Fisiologia e manejo da reprodução equina*. 2.ed. Recife: [s.n.], 1986. p. 43-84.
- ARMSTRONG, D. G.; WEBB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod.*, v.2, p.139-146, 1997.
- ARÍAS, C. I. C. *Desarrollo folicular en gestaciones equinas y mulares tratadas con un antagonista de GnRH*. 2011. Tesis – Universidad Nacional Autónoma de México, México-DF.
- ARORA, R.; PURBEY, L.; LUKTUKU, S. Gestation period in equines. *Indian Vet. J.*, v.60, n.10, p.824-830, 1983.
- ARRUDA, R.P.; VIEIRA, R.C.; BARBOSA, R.T.; MANZANO, A. Características seminais de equídeos destinados a seleção para a congelamento. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, suppl.1, p.214, 1989a.

- ARRUDA, R.P.; VIEIRA, R.C.; BARBOSA, R.T.; MANZANO, A. Congelamento do sêmen de jumentos: características reprodutivas de um doador. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, supl.1, p.215, 1989b.
- ASTUDILLO, C. R.; HAJEK, G. E.; DIAZ, O. H. Influencia de algunos factores climaticos sobre la duracion de la gestacion de yeguas fina sangre de carrera: estudio preliminar. *Zoolatria*, v.2, n.35, p.37-38, 1960.
- AURICH, C. Factors affecting the plasma membrane function of cooled-stored stallion spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.*, v.89, n.1-4, p.65-75, 2005.
- AURICH, C. Recent advances in cooled-semen technology. *Anim. Reprod. Sci.*, v.107, n.4, p.268-275, 2008.
- AURICH, C.; BURGMANN, F.; HOPPE, H. Opioid regulation of luteinising hormone and prolactin release in the horse-identical or independent endocrine pathways? *Anim. Reprod. Sci.*, v.44, n.2, p.127-134, 1996b.
- AURICH, J. E.; HOPPEM, H. O.; HOPPE, H. *et al.* Endogenous opioids and reproductive functions the horse. *Anim. Reprod. Sci.*, v.42, n.1, p.119-129, 1996a.
- AUSTIN, E. J.; MIHM, M.; EVANS, A. C. O. *et al.* Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biol. Reprod.*, v.64, n.3, p.839-848, 2001.
- BAEZINGER, J. U.; GREEN, E. D. Pituitary glycoprotein hormone oligosaccharides: structure, synthesis and function of the asparagines-linked oligosaccharides on lutropin, follitropin and thyrotropin. *Bioch. Bioph. Acta*, v.947, n.2, p.287-306, 1988.
- BAHL, O. P.; NAGESWARA, R. T.; ANUMULA, K. R. Biological role of carbohydrates in gonadotropins. In: SAXENA, B. B.; CATT, K. J.; BIRNBAUMER, L. (Eds.). *Hormone receptors in growth and reproduction*. New York: Raven Press, 1984. p. 165-83.
- BAILEY, J.; BILOUDEAU, J.; CORMIER, N. Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon, *J. Andr.*, v.21, n.1, p.1-7, 2000.
- BAIN, A. Foetal losses during pregnancy in the thoroughbred mare: a record of 2562 pregnancies. *N. Z. Vet. J.*, v.17, n.1, p.155-158, 1969.
- BAIN, A. M. Estrus and infertility of the thoroughbred mare in Australasia. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v.131, n.4, p.179-185, 1957.
- BAKER, C. B.; ADAMS, M. H.; MCDOWELL, K. J. Lack of expression of alpha or omega interferons by the horse conceptus. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.44, p.439-443, 1991.
- BALL, B. A. Embryonic death in mares. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. (Eds.). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993. cap.61, p.517-531.
- BALL, B. A. Embryonic loss in mares: incidence, possible causes and diagnostic considerations. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.4, n.2, p.263-290, 1988.
- BALL, B. A. Reduced reproductive efficiency in the aged mare: role of early embryonic loss. In: RECENT advances in equine theriogenology. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2000. Disponível em: <www.ivis.org>. Acessado em 23 de maio de 2010.
- BALL, B. A.; LITTLE, T. V.; HILLMAN, R. B.; WOODS, G. L. Pregnancy at days 2 and 14 and estimated embryonic loss prior to day 14 in normal and subfertile mares. *Theriogenology*, v.26, n.5, p.611-619, 1986.
- BALL, B. A.; LITTLE, T. V.; WEBER, J. A.; WOODS, G. L. Survival of day 4 embryos from young normal mares and aged subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.85, n.1, p.187-194, 1989.
- BALL, B. A.; MEDINA, V.; GRAVANCE, C. G. *et al.* Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrossosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5°C. *Theriogenology*, v.56, n.4, p.577-589, 2001.
- BALL, B. A.; WOODS, G. L. Embryonic loss and early pregnancy loss in the mare. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, v.9, p.459-470, 1987.
- BARBACINI, S.; GULDEN, P.; MARCHI, V. *et al.* Incidence of embryo loss in mares inseminated before or after ovulation. *Equine Vet. Educ.*, v.11, n.5, p.252-254, 1999b.

- BARBACINI, S.; MARCK, V.; ZAVAGLIA, G. Equine frozen semen: results obtained in Italy during the 1994-1997 period. *Equine Vet. Educ.*, v.11, n.5, p.109-112, 1999a.
- BARRON, J. K. The effect of maternal age and parity on the racing performance of thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, v.27, n.2, p.73-75, 1995.
- BATELLIER, F.; VIDAMENT, M.; FAUQUANT, J. *et al.* Advances in cooled semen technology. *Anim. Reprod. Sci.*, v.68, n.4, p.181-190, 2001.
- BATTUT, I.; COLCHEN, S.; FIENI, F. *et al.* Rates of success in non-surgical embryo collections at 144, 156 or 168 hours after ovulation. *Equine Vet. J.*, suppl.25, p.60-68, 1998.
- BEDFORD, J. M. Effect of environment on the phagocytosis of rabbit spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, v.9, n.2, p.249-256, 1965.
- BEDFORD, S. J.; JASKO, D. J.; GRAHAM, J. K. *et al.* Effect of seminal extenders containing egg yolk and glycerol on motion characteristics and fertility of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.43, n.5, p.955-967, 1995.
- BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Follicle selection in cattle and horse: role of intrafollicular factors. *Soc. Reprod. Fertil.*, v.132, n.3, p.365-377, 2006.
- BELIN, F.; GOUDET, G.; DUCHAMP, G.; GERARD, N. Intrafollicular concentrations of steroids and steroidogenic enzymes in relation to follicular development in the mare. *Biol. Reprod.*, v.62, n.5, p.1335-1343, 2000.
- BELL, R. J.; BRISTOL, F. Fertility and pregnancy loss after delay of foal oestrus with progesterone and oestradiol-17 $\beta$ . *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p. 667-668, 1987.
- BELLING JR, T. H. Postovulation breeding and related reproductive phenomena in the mare. *Equine Practice*, v.6, n.6, p.12-19, 1984.
- BELLING, T. H. What is normal for the mare? A review and discussion of reproductive phenomena. *Irish Vet. J.*, v.39, n.3, p.184-189, 1985.
- BELONJE, P. C.; van NIEKERK, C. H. A review of the influence of nutrition upon the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.167-169, 1975.
- BENIRSCHKE, K.; SULLIVAN, M. M. Corpora lutea in proven mules. *Fertil. Steril.*, v.17, n.1, p.24-33, 1966.
- BENIRSCHKE, K. Interespecif hybrids. In: WYNN, R. M. (Ed.). *Fetal homeostasis*. New York: New York Academy of Science, 1965.
- BERGERON, A.; CRÊTE, M. H.; BRINDLE, Y. *et al.* Low density lipoprotein fraction from hen's egg yolk decreases the binding of the major proteins of bovine seminal plasma to sperm and prevents lipid efflux from the sperm membrane. *Biol. Reprod.*, v.70, n.3, p.708-717, 2004.
- BERGFELT, D. R.; GASTAL, E. L.; GINTHER, O. J. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. *Biol. Reprod.*, v.65, n.2, p.425-432, 2001.
- BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology*, v.24, p.99-108, 1985.
- BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Embryo loss following GnRH-induced ovulation in anovulatory mares. *Theriogenology*, v.38, n.1, p.33-43, 1992.
- BERGFELT, D. R.; MANN, B. G.; SCHWARTZ, N. B.; GINTHER, O. J. Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.11, n.6, p.319-322, 1991.
- BERGFELT, D. R.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Resurgence of the primary corpus luteum during pregnancy in the mare. *Anim. Reprod. Sci.*, v.21, n.3-4, p.261-70, 1989.
- BERGFELT, D. R.; WOODS, J. A.; GINTHER, O. J. Role of the embryonic vesicle and progesterone in embryonic loss in mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.95, n.2, p.339-47, 1992.
- BERGFELT, D. T.; GINTHER, O. J. Relationships between FSH surges e follicular waves during the estrous cycle in the mare. *Theriogenology*, v.39, n.4, p781-796, 1993.
- BERLINER, V. R. Dilutors for stallions and jack semen. *J. Anim. Sci.*, v.1, n.4, p.314-319, 1942.

- BETTERIDGE, K. J. The structure and function of the equine capsule in relation to embryo manipulation and transfer. *Equine Vet. J.*, suppl.8, p.92-100, 1989.
- BETTERIDGE, K. J.; EAGLESOME, M. D.; MITCHELL, D. *et al.* Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: observations on fresh specimens. *J. Anat.*, v.135, n.1, p.191-209, 1982.
- BHAVNANI, B. R.; SHORT, R. V.; SOLOMON, S. Formation of estrogens by the pregnant mare. II. Metabolism of <sup>14</sup>C-acetate and <sup>3</sup>H-cholesterol injected into the fetal circulation. *Endocrinology*, v.89, n.5, p.1152-1157, 1971.
- BHAVNANI, B. R.; SHORT, R. V.; SOLOMON, S. Formation of oestrogens by the pregnant mare. I Metabolism of 7-<sup>3</sup>H-dehydroisoandrosterone and 4-<sup>14</sup>C-androstenedione injected into the umbilical vein. *Endocrinology*, v.85, n.6, p.1172-1179, 1969.
- BIELANSKI, W.; EWY, Z.; PIGONIOWA, H. Differences in the level of gonadotrophins in the serum of pregnant mares. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 3., 1956, Cambridge. *Proceedings...* Cambridge, U.K: Brown Knight & Truscott, 1956. 110p.
- BLANCHARD, T. L.; THOMPSON, J. A.; BRINSKO, S. P. *et al.* Mating mares on foal heat: a five-year retrospective study. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 50., 2004, Denver, Colorado. *Proceedings...* Ithaca NY: American Association of Equine Practitioners, 2004. Disponível em: <www.avis.org>.
- BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D.; SCHUMACHER, J. Reproductive physiology of the nonpregnant mare. In: MANUAL of equine reproduction. Missouri: Mosby-Year Book., 1998. p.9-13.
- BLOM, E. Ultrastrukturen af nogle spermiedefekter of for slag til et nyt klassificerings-system for tyrens spermogram. The ultrastructure of some characteristic sperm defect and a proposal for a new classification of bull spermogram. *Nord. Vet. Med.*, v.25, n.7-8, p.383-91, 1973.
- BOETA, M.; QUINTERO, L. Z. Utilización de la leche descremada ultrapasteurizada como diluyente de semen refrigerado de burro, destinado a la inseminación de yeguas. *Vet. Méx.*, v.31, n.1, p.67-69, 2000.
- BOETA, M.; ZARCO, L. Endocrine alterations around the time of abortion in mares impregnated with donkey or horse semen. *Anim. Reprod. Sci.*, v.121, n.1-2, p.124-130, 2010.
- BOETA, M.; ZARCO, L. Progesterone and equine chorionic gonadotropin concentrations around the time of pregnant loss in mares impregnated by donkeys or stallions. *J. Equine Vet. Sci.*, v.25, n.12, p.531-538, 2005.
- BOGART, R.; MAYER, D. T. The effects of egg yolk on the various physical and chemical factors detrimental to spermatozoan viability. *J. Anim. Sci.*, v.9, n.2, p.143-152, 1950.
- BORLAND, R.; LOKE, Y. W.; WILSON, D. B. Immunological privilege resulting from endocrine activity of trophoblast *in vivo*. In: EDWARDS, R. G.; HOWE, C. W. S.; JOHNSON, M. H. (Eds). *Immunobiology of trophoblast*. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 157-169.
- BOUSFIELD, G. R.; LIU, W. K.; SUGINO, H. *et al.* Structural studies on equine glycoprotein hormones amino acid sequence of equine lutropin  $\beta$  subunit. *J. Biol. Chem.*, v.262, n.18, p.8610-8620, 1987.
- BRACHER, V.; MATHIAS, S.; ALLEN, W. R. Influence of chronic degenerative endometritis endometriosis on placental development in the mare. *Equine Vet. J.*, v.28, n.3, p.180-188, 1996.
- BRANDÃO, F. Z. *Efeito da concentração espermática e do intervalo entre as duas últimas inseminações sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído*. 2001. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- BRINSKO, S. P.; BALL, B. A.; ELLINGTON, J. E. In vitro maturation of equine oocytes obtained from different age groups of sexually mature mares. *Theriogenology*, v.44, n.4, p.461-469, 1995.

- BRINSKO, S. P.; BALL, B. A.; MILLER, P. G. In vitro development of day 2 embryos obtained from young, fertile mares and aged, subfertile mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.102, n.2, p.371-378, 1994.
- BRINSKO, S. P.; IGNOTZ, G. G.; BALL, B. A. *et al.* Characterization of polypeptides synthesized and secreted by oviductal epithelial cell explants obtained from young, fertile and aged, subfertile mares. *Am. J. Vet. Res.*, v.57, n.9, p.1346-1353, 1996.
- BRINSKO, S. P.; VARNER, D. D. Artificial insemination. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993. p.790-796.
- BRISTOL, F. Fertility of pasture bred mares in synchronized oestrus. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.39-43, 1987.
- BRISTOL, F. Synchronization of ovulation. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993. p.348-385.
- BRUEMMERT, J. E.; COY, R. C.; SQUIRES, E. L.; GRAHAM, J. K. Effect of pyruvate on the function of stallion spermatozoa stored for up to 48 hours. *J. Anim. Sci.*, v.80, n.1, p.12-18, 2002
- BUITEN, A. V.; WESTERS, P.; COLENBRANDER, B. Male, female and management risk factors for non-return to service in dutch mares. *Prev. Vet. Med.*, v.61, n.1, p.17-26, 2003.
- BURWASH, J.; PICKETT, B. W.; VOSS, J. L. *et al.* Relationship of duration of estrus to pregnant rate in normally cycling, nonlactating mares. *J. Anim. Vet. Med. Ass.*, v.165, n.8, p.714-716, 1974.
- CAMERON, E. Z.; LINKLATER, W. L.; STAFFORD, K. J. *et al.* Birth sex ratios relate to mare condition at conception in Kaimanawa horses. *Behav. Ecol.*, v.10, n.5, p.472-475, 1999.
- CAMILLO, F.; MARMORINI, P.; ROMAGNOLI, S. *et al.* Fertility of the first post partum estrous compared with fertility at the following estrous cycles in foaling mares and with fertility in nonfoaling mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.17, n.11, p.612-616, 1997.
- CAMILLO, F.; VANOZZI, I.; ROTTA, A. *et al.* Successful non-surgical transfer of horse embryos to mule recipients. *Reprod. Dom. Anim.*, v.38, n.5, p.380-385, 2003.
- CAMPBELL, B. K.; MANN, G. E.; MCNEILLY A. S. *et al.* The pattern of ovarian inhibin, estradiol and androstenedione secretion during the estrous cycle of the ewe. *Endocrinology*, v.127, n.1, p.227-235, 1990.
- CANISSO, I. F. *Comportamento sexual, parâmetros seminais e fertilidade do sêmen congelado de jumentos (Equus asinus) da raça Pêga*. 2008. 211f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, MG.
- CANTÓN, E. V. *Resistencia al efecto luteolítico de La PGF2α em yeguas servidas com caballo y com burro*. 2008. Tesis – Universidad Nacional Autónoma de Mexico, Mexico-DF.
- CARNEVALE, E. M.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Follicular activity and concentrations of FSH and LH associated with senescence in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, v.35, n.3-4, p.231-246, 1994.
- CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Relationship of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, v.37, n.5, p.1101-1115, 1992.
- CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J.. Defective oocytes as a cause of subfertility in old mares. *Biol. Reprod. Mono.*, v.1, p.209-214, 1995.
- CARNEVALE, E. M.; GRIFFIN, P. G.; GINTHER, O. J. Age-associated fertility before entry of embryos into the uterus in mares. *Equine Vet. J.*, suppl.15, p.31-35, 1993.
- CARNEVALE, E. M.; HERMENET, M. J.; GINTHER, O. J. Age and pasture effects on vernal transition in mares. *Theriogenology*, v.47, n.5, p.1009-1018, 1997.
- CARVALHO, G. R. *Fertilidade do sêmen equino diluído, resfriado a 20°C e transportado*. 1992. 87f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.
- CASLICK, E. A. The vulva and vulvo-vagina orifice and its relation to the genital health of the thoroughbred mare. *Cornell Vet.*, v.27, n.2, p.178-187, 1937.

- CASTRO, C. J. U. *Papel de la gonadotropina coriônica equina em La estimulación de La esteroidogenesis durante La gestación equina*. 2008. 87f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Nacional Autónoma do México.
- CHARNOCK-JAMES, D. S.; SMITH, S. K. Vascular endothelial growth factor and corpus luteum angiogenesis. *Angiogenesis*, v.2, n.2, p.119-121, 1998.
- CHENG, P. L. The application of some investigations of reproductive physiology in horse breeding practice in China. *Anim. Breed. Abst.*, v.33, n.1, p.58, 1965.
- CHEVALIER, F.; PALMER, E. Ultrasonic echography in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.423-30, 1982.
- CHEVALIER-CLÉMENT, F. Pregnancy loss in the mare. *Anim. Reprod. Sci.*, v.20, n.3, p.231-244, 1989.
- CHRISTENSON, L. K.; DEVOTO, L. Cholesterol transport and steroidogenesis by the corpus luteum. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, v.1, p.90, 2003.
- CLEGG, M. T.; BODA, J. M.; COLE, H. H. The endometrial cups and allanto-chorionic pouches in the mare with emphasis on the source of equine gonadotrophin. *Endocrinology*, v.54, n.4, p.448-463, 1954.
- CLEGG, M. T.; COLE, H. H.; HOWARD, C. B. *et al.* The influence of foetal genotype on equine gonadotropin secretion. *J. Endocrinol.*, v.25, p.245-248, 1962.
- COCHET, M.; VAIMAN, D.; LEFEVRE, F. Novel interferon delta genes in mammals: cloning of the one gene from the sheep, two genes expressed by the horse conceptus and discovery of related sequences in several taxa by genomic database screening. *Gene*, v.433, n.1-2, p.88-99, 2009.
- COCHRAN, J. D.; AMANN, R. P.; FROMAN, D. P. *et al.* Effects of centrifugation, glycerol level, cooling to 5°C, freezing rate and thawing rate on the post-thaw motility of equine sperm. *Theriogenology*, v.22, n.1, p.25-38, 1984.
- COINTER, V. *Externarum et internarum principalium humani corporis partium tabulae microform: atque exercitationes observationesque, novis, diversis, ac artificiosissimus figeris illustratae, philosophis, medicis, in primis autem anatómico studio addictis summe utiles*. Nuremberg: Officina Theodorici Gerlatzeni, 1573.
- COLE, H. H.; GOSS, H. The source of equine gonadotropin. In: EVANS, H. M (Ed.) *Essays in biology in honor*. Berkeley, CA: University of California, 1943. p.107-119.
- COLE, H. H.; HART, G. H. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Am. J. Physiol.*, v.93, n.1, p.57-68, 1930.
- CORMIER, N.; SIRARD, M. A.; BAILEY, J. L. Premature capacitation of bovine spermatozoa is initiated by cryopreservation. *J. Androl.*, v.18, n.4, p.461-468, 1997.
- COSGROVE, J. R.; RENSIS, F.; FOXCROFT, G. R. Opioidergic pathways in animal reproduction: their role and effects of their pharmacological control. *Anim. Reprod. Sci.*, v.33, n.1-4, p.373-392, 1993.
- COSTA, A. J. S. A.; VALE FILHO, V. R.; SOUTO, N. B. *et al.* Avaliação andrológica de jumentos (*Equus asinus*) da raça Pêga, em três regiões, duas em Minas Gerais e uma na Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte, MG. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. p.449.
- COUTURE, L.; LEMONNIER, J. P.; ROBERT, P.; BIDART, J. M. Immunochemical studies on equine chorionic gonadotropin and its substitutes. *Prat. Vet. Equine*, v.26, n.2, p.121-127, 1994.
- COUTURE, L.; LEMONNIER, J. P.; TROALEN, F. *et al.* Imunochemical studies of equine chorionic gonadotropin (eCG), eCG $\alpha$  e eCG $\beta$ . *Endocrinology*, v.132, n.1, p.205-211, 1993.
- COX, J. E. Oestrone and equilin in the plasma of the pregnant mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.463-468, 1975.



- CULOW, J. R.; MAXWELL, W. M. C.; EVANS, G. *et al.* A comparison of duck and chicken egg yolk for cryopreservation of stallion sperm. *Aust. Vet. J.*, v.85, n.6, p.232-235, 2007.
- DAELS, P. F.; ALBRECHT, B. A.; MOHAMMED, H. O. Equine chorionic gonadotropin regulates luteal steroidogenesis in pregnant mares. *Biol. Reprod.*, v.59, n.5, p.1062-1068, 1998.
- DAELS, P. F.; ALBRECHT, B. A.; MOHAMMED, H. O. In vitro regulation of luteal function in mares. *Reprod. Domest. Anim.*, v.30, n.4, p.211-217, 1995.
- DAELS, P. F.; AMMON, D. C.; STABENFELDT, G. H. *et al.* Urinary and plasma estrogen conjugates, estradiol and estrone concentration in nonpregnant and early pregnant mares. *Theriogenology*, v.35, n.5, p.1001-1016, 1991a.
- DAELS, P. F.; DEMORAES, J. J.; STABENFELDT, G. H. *et al.* The corpus luteum: source of oestrogen during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.44, p.501-508, 1991b.
- DAELS, P. F.; HUGHES, J. P. The abnormal estrous cycle. In: McKINNON, A. O.; VOSS, J. L. *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 150-151.
- DAELS, P. F.; STABENFELDT, G. H.; HUGHES, J. P. *et al.* Evaluation of progesterone deficiency as a cause of fetal death in mares with experimentally induced endotoxemia. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, n.2, p.282-288, 1991c.
- DAMM, J. B. L.; HARD, K.; KAMERLING, J. P. *et al.* Structure determination of the major N and O linked carbohydrate chains of the beta subunits from equine chorionic gonadotropin. *Eur. J. Biochem.*, v.1, p.175, 1990.
- DARENIUS, A. Experiences with chilled, transported equine semen. In: STALLION REPRODUCTION SYMPOSIUM, 1998. *Proceedings...* Hastings, NE: Society for Theriogenology - American Association of Equine Practitioners, 1998. p.60-70.
- DARENIUS, K. Fertility data in the horse and the occurrence of pregnancy and neonatal loss in relation to breeding method. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE EMBRYO TRANSFER, 3., 1992, Buenos Aires. *Anais...* Buenos Aires: [s.n.], 1992. p. 20.
- DARENIUS, K. SIZAN, M. R. Clinical and endocrine aspects of early fetal death in the mare. *J. Rep. Fertil.*, suppl.35, p.497-498, 1987.
- DAVID, K.; DE JONGH, S. E. Some biological properties of equilin. *Biochem. J.*, v.29, n.2, p.371-377, 1934.
- DAVIES-MOREL, D. M. C.; NEWCOMBE, J. R.; HOLLAND, S. J. Factors affecting gestation length in the thoroughbred mare. *Anim. Reprod. Sci.*, v.74, n.3-4, p.175-185, 2002.
- DAVIES-MOREL, M. C. G. *Equine artificial insemination*. Wallingford-Oxon: CAB International. 1999. 406p.
- DAVIS, J. S.; RUEDA, B. R. The corpus luteum: on ovarian structure with maternal instincts and suicidal tendencies. *Front. Biosci.*, v.7, p.1949-1978, 2002.
- DAVIS, S. D.; SHARP, D. C. Intra-follicular and peripheral steroid characteristics during vernal transition in the pony mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.44, p.333-340, 1991.
- DAY, F. T. Clinical and experimental observations on reproduction in the mare. *J. Agri. Sci.*, v.30, p.244-261, 1940.
- DAY, F. T.; ROWLANDS, I. W. Serum gonadotrophin in Welsh and Shetland ponies. *J. Endocrinol.*, v.5, p.1, 1947.
- DE MESTRE, A. M.; BACON, S. J.; COSTA, C. C. *et al.* Modeling trophoblast differentiation using equine chorionic girdle vesicles. *Placenta*, v.29, n.2, p.158-169, 2008.
- DE VRIES, J. P. Evaluation of the use fresh, extended, transported semen in the Netherlands. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE REPRODUCTION, 4., 1986, Calgary. *Proceedings...*:Cambridge: Journal of Reproduction & Fertility, 1987. p.33.
- DENKER, H. W.; BETTERIDGE, K. J.; SIROIS, J. Shedding of the capsule and proteinase activity in the horse embryo. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.703, 1987.

- DETKENS, S. Studies on pregnancy duration and an attempt to determine its inheritance in Thoroughbred mares. *Anim. Breed. Abstr.*, v.32, n.4, p.445, 1964. (Abst., 2716).
- DIAZ CHICO, B. N. Bioquímica básica de las hormonas esteroideas: Biología y clínica del cáncer. *Biocancer*, v.2, p.1-22, 2004.
- DIAZ CHICO, B. N.; BOSCH D. N.; PENA, M. Z. Hormonas y cáncer: carcinogenesis mamaria por estrógenos. *Biocancer*, v.1, p.1-14, 2004.
- DIAZ, F. J.; ANDERSON, L. E.; WU, Y. L. *et al.* Regulation of progesterone and prostaglandin F2 alpha production in the CL. *Mol. Cel. Endocrinol.*, v.191, n.1, p.65-80, 2002.
- DÍAZ, N.; DUVERGER, O.; DENIS, R. *et al.* Resultados preliminares sobre fertilidad en yeguas inseminadas con semen fresco de burros para la obtención de mulus (*Equus mulus*). *Cienc. Tecnol. Ganadera*, v.3, n.2, p.65-67, 2009.
- DIJKMAN, J. T. A note on the influence of negative gradients on the energy expenditure of donkeys walking, carrying and pulling loads. *Anim. Prod.*, v.54, p.153-156, 1992.
- DINGER, J. E.; NOILES, E. E. Ovarian activity in synchronized mares following administration of follicles stimulating hormone. *Anim. Reprod. Sci.*, v.7, n.6, p.511-516, 1984.
- DONADEU, F. X.; GINTHER, O. J. Effect of number and diameter of follicles on plasma concentrations of inhibin and FSH in mares. *Reproduction*, v.121, n.6, p.897-903, 2001.
- DONADEU, F. X.; GINTHER, O. J. Follicular waves and circulating concentrations of gonadotrophins, inhibin and oestadiol during the anovulatory season in mares. *Reproduction*, v.124, n.6, p.875-885, 2002.
- DONADEU, F. X.; GINTHER, O. J. Interactions of follicular factors and season in the regulation of circulating concentrations of gonadotrophins in mares. *Reproduction*, v.125, n.6, p.743-750, 2003.
- DONADEU, F. X.; GINTHER, O. J. Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. *Anim. Reprod. Sci.*, v.100, n.3/4, p.225-242, 2007.
- DONADEU, F. X.; THOMPSON JUNIOR, D. L. Administration of sulpiride to anovulatory mares in winter: effects on prolactin and gonadotropin concentrations, ovarian activity, ovulation and hair shedding. *Theriogenology*, v.57, n.2, p.963-976, 2002.
- DONALDSON, W. L.; ZHANG, C. H.; ORIOL, J. G.; ANTCZAK, D. F. Invasive equine trophoblast expresses conventional class I major histocompatibility complex antigens. *Development*, v.110, n.1, p.63-71, 1990.
- DOUGLAS, R. H.; BURNS, P. J.; HERSHMAN, L. Physiological and commercial parameters for producing progeny from subfertile mares by embryo transfer. *Equine Vet. J.*, Suppl. 3, p.111-114, 1985.
- DOUGLAS-HAMILTON, D. H.; OSOL, R.; OSOL, G. *et al.* A field study of the fertility of transported equine semen. *Theriogenology*, v.22, n.3, p.291-304, 1984.
- DOWSETT, K. F.; KNOTT, L. M. The influence of age and breed on stallion semen. *Theriogenology*, v.46, n.3, p.397-412, 1996.
- DROBNIS, E. Z.; OVERSTREET, J. W. Natural history of mammalian spermatozoa in the female reproductive tract. *Oxf. Rev. Reprod. Biol.*, v.14, p.1-45, 1992.
- DUARTE, M. B.; VIEIRA, R. C.; SILVA, F. O. C. Incidência e perda de prenhez até 50o dia em éguas Quarto de Milha. *Ciênc. Rural*, v.32, n.4, p.643-647, 2002.
- EILTS, B. E.; SCHOLL, D. T.; PACCAMONTI, D. L. *et al.* Prevalence of endometrial cysts and their effect on fertility. *Biol. Reprod. Monoo.*, v.1, p.527-532, 1995.
- ELLENBERGER, C.; WILSHER, S.; ALLEN, W. R. *et al.* Immunolocalisation of the uterine secretory proteins uterocalin, uteroferrin and uteroglobin in the mare's uterus and placenta throughout pregnancy. *Theriogenology*, v.70, n.5, p.746-757, 2008.
- EL-WISHY, A. B. Testicular and epididymal sperm reserves in the ass (*Equus asinus*) and stallion (*Equus caballus*). *Z Tierzucht Zücht Biol.*, v.91, n.1-4, p.334-344, 1974.

- EL-WISHY, A. B.; EL-SAYED, M. A. I.; SEIDA, A. A. *et al.* Some aspects of reproductive performance in arabian mares in egypt. *Reprod. Domest. Anim.*, v.25, n.4, p.227-234, 1990.
- ENDERS, A. C.; LIU, I. K. M. Trophoblast-uterine interactions during equine chorionic girdle cell maturation, migration, and transformation. *Am. J. Anat.*, v.192, n.4, p.366-381, 1991.
- ENDERS, A. C.; MEADOWS, S.; STEWART, F.; ALLEN, W. R. Failure of endometrial cup development in the donkey-in-horse model of equine abortion. *J. Anat.*, v.188, pt.3, p.575-589, 1996.
- EVANS, M. J.; IRVINE, C. H. G. Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.193-200, 1975.
- EVANS, W. J.; TORBECK, R. L. *Breeding management and foal development*. Texas: Equine Research Incorporated, 1998. 700p.
- FAZLEABAS, A. T.; GEISERT, R. D.; BAZER, F. W.; ROBERTS, R. M. Relationship between release of plasminogen activator and estrogen by blastocysts and secretion of plasmin inhibitor by uterine endometrium in the pregnant pig. *Biol. Reprod.*, v.29, n.1, p.225-38, 1983.
- FERNANDES, C.; CARNEIRO, U.; BORGES, C. *et al.* Eficiência reprodutiva de éguas PSI no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte, MG. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995. p.389.
- FERNANDES, C. E.; PIMENTEL, C. A. Características seminais e fertilidade em garanhões. *Ciênc. Rural*, v.32 n.5, p.829-834, 2002.
- FERRAZ, L. E. S.; VICENTE, W. R. R. Influência do momento da cobertura, em relação à ovulação, na fertilidade e na ocorrência de morte embrionária precoce em equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.4, p.537-543, 2006.
- FERREIRA, M. F. L. *Efeito de diluente e taxa de resfriamento sobre a motilidade espermática e fertilidade do sêmen de jumento (equus asinus)*. 1993. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- FRHR, J.; LEPEL, V. Maintenance of fertility in the horse including artificial insemination. *Equine Vet. J.*, v.7, n.2, p.97-101, 1975.
- FITZGERALD, B. P.; MCMANUS, C. J. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. *Biol. Reprod.*, v.63, n.1, p.335-340, 2000.
- FITZGERALD, B. P.; MELLBYE, L. B. Effect of administration of an  $\alpha$ -adrenergic agonist, xylazine, on 2 pulsatile gonadotrophin secretion in anoestrous horse mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.84, n.2, p.693-700, 1988.
- FLEURY, J. J.; COSTA NETO, J. B.; ALVARENGA, M. A. Results from a embryo transfer programe with Mangalarga in Brazil. *Equine Vet. J.*, suppl.8, p.73-74, 1989.
- FLOOD, P. F.; BETTERIDGE, K. J.; IRVINE, D. S. Oestrogens and androgens in blastocoelic fluid and cultures of cells from equine conceptuses of 10 $\pm$ 22 days gestation. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.413-420, 1979.
- FLORES, G. *Efecto del cloprostenol sobre La función lútea y viabilidad fetal em yeguas gestantes com feto mula y feto caballo em etapas tempranas dela gestación*. 2009. 60f. Master Thesis - Facultadde Medicina Veterinariay Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México,D.F.
- FONTAINE, M.C.; CLOOLBERTLAUGIER, C.; TARIEL, G. Abortion and stillbirth of infectious origin in the mare: a study of necropsy of aborted fetuses, premature and stillborn foals. *Point Vet.*, v.25, n.154, p.79-84, 1993.
- FOOTE, R. H. Whithin-Herd use of boar semen at 5°C, with a note eletronic monitoring of oestrus. *Reprod. Domest. Anim.*, v.37, n.1, p.61-63, 2002.
- FORTUNE, J. E. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.135-163, 2003.

- FORTUNE, J. E.; QUIRK, S. M. Regulation of steroidogenesis in bovine prevulatory follicles. *J. Anim. Sci.*, v.66, suppl.1, p.1-8, 1988.
- FORTUNE, J.E.; RIVERS, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.82-83, p.109-126, 2004.
- FOWDEN, A.L., COMLINE, R.S., SILVER, M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. *Equine Vet. J.*, v.16, n.4, p.239-246, 1984.
- FRANCL, A. T.; AMANN, R. P.; SQUIRES, E. L. *et al.* Motility and fertility of equine spermatozoa in a milk extender after 12 or 24 hours at 20°C. *Theriogenology*, v.27, n.3, p.517-525, 1987.
- FREEDMAN, L. J.; GARCIA, M. C.; GINTHER, O. J. Influence of ovaries and photoperiod on reproductive function in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.79-86, 1979.
- FREEMAN, D. A.; WOODS, G. L. *et al.* Embryo-initiated oviductal transport in mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.95, n.2, p.535-538, 1992
- GARG, D. N.; MANCHANDA, V. P. Prevalence and etiology of equine abortion. *Indian J. Anim. Sci.*, v.56, n.7, p.730-735, 1986.
- GASTAL, E. L.; BERGFELT, D. R.; NOGUEIRA, G. P. *et al.* Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentrations in mares. *Biol. Reprod.*, v.61, n.3, p.1492-1498, 1999.
- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Interrelationships among follicles during the common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. *Reproduction*, v.128, n.4, p.417-422, 2004.
- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. Experimental assumption of dominance by a smaller follicle and associated hormonal changes in mares. *Biol. Reprod.*, v.61, p.724-730, 1999.
- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. *Biol. Reprod.*, v.61, p.31-39, 1999.
- GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biol. Reprod.*, v.57, n.6, p.1320-1327, 1997.
- GASTAL, M. M. F. O. *Estudo das características seminais e do comportamento sexual de jumentos*.1991. 105f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- GASTAL, M. O.; HENRY, M.; BEKER, A. R. *et al.* Effect of ejaculation frequency and season on donkey jack semen. *Theriogenology*, v.47, n.3, p.627-638, 1997.
- GEBERS, A. M. *Emissão diária de espermatozoides e algumas características reprodutivas de jumentos da raça Pega*. 1995. 90f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- GERLACH, T.; AURICH, J. E. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim. Reprod. Sci.*, v.58, n.3-4, p.197-213, 2000.
- GERSTENBERG, C.; ALLEN, W. R.; STEWART, F. Factors controlling epidermal growth factor EFG: gene expression in the endometrium of the mare. *Mol. Reprod. Dev.*, v.53, n.3, p.255-265, 1999.
- GIBBS, P. G.; DAVISON, K. E. A field study on reproductive efficiency of mares maintained predominately on native pasture. *Equine Vet. Sci.*, v.12, n.4, p.219-222, 1992.
- GIGLI, I.; BYRD, D. D.; FORTUNE, J. E. Effects of oxygen tension and supplements to the culture medium on activation and development of bovine follicles. *Theriogenology*, v.66, n.2, p.344-353, 2006.
- GILES, R. C.; DONAHUE, J. M.; HONG, C. B. *et al.* Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3, 527 cases(1986- 1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.203, n.8, p.1170-1175, 1993.
- GINTHER, O. J. Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a 12-month period in mares. *Amer J Vet Res*, v. 35, p.1173-1179, 1974.

- GINTHER, O. J. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. In: ANNUAL CONVENTION AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 44., 1998, Baltimore. *Proceedings...* Baltimore: American Association of Equine Practitioners, 1998. p.73-104.
- GINTHER, O. J. Intrauterine movement of the early conceptus in barren and postpartum mares. *Theriogenology*, v.21, n.4, p.633-644, 1984.
- GINTHER, O. J. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology*, v.19, n.4, p.603-611, 1983.
- GINTHER, O. J. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects*. 5.ed. Ann Arbor: McNaughton and Gunn, 1979. p.315-23.
- GINTHER, O. J. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects*. Cross Plains, WI: Equiservices, 1992. 478p.
- GINTHER, O. J. The twinning problem: From breeding to day 16. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 29., 1983. *Proceedings ...* [s.l.]: AAEP, 1983. p.11-26.
- GINTHER, O. J. *Ultrasonic imaging and animal reproduction: book 2. Horses*. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 1995.
- GINTHER, O. J. *Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare*. 2nd ed. Cross Plains, WI: Equiservices; 1986.
- GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. *Biol. Reprod.*, v.64, n.1, p.197-205, 2001.
- GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; GASTAL, E. L. *et al.* Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: a comparative study. *Reproduction*, v.130, n.3, p.379-388, 2005.
- GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; KOT, K. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. *Reproduction*, v.124, n.4, p.475-482, 2002.
- GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; DONADEU, F. X. *et al.* Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.239-257, 2003.
- GINTHER, O. J.; CARNEVALE, E. M.; BERGFELT, D. R. Delay in emergence of the ovulatory follicular wave in old mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.13, n.2, p.75-79, 1993.
- GINTHER, O. J.; GARCIA, M. C.; BERGFELT, D. R. Embryonic loss in mares: pregnancy rate, length of interovulatory intervals and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology*, v.24, n.4, p.409-417, 1985.
- GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O. *et al.* Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biol. Reprod.*, v.71, n.4, p.1195-1201, 2004.
- GIRARD, A.; SANDULESCO, G.; FRIDESON, A.; RUTGERS, J. J. Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée. *C. R. Acad. Sci.*, v.195, p.981, 1932.
- GLISTER, C., TANNETTA, D. S., GROOME, N. P., KNIGHT, P. G. Interactions between follicle stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells. *Biol. Reprod.*, v.65, p.1020-1028, 2001.
- GORE-LANGTON, R. E.; ARMSTRONG, D. T. Follicular steroidogenesis and its In: KNOBIL E, NEILL J. D. (Eds.). *The physiology of reproduction*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1994. p.571-627.
- GOULART, H. M.; SILVA, A. E. D. F.; MCMANNUS, C.; PAPA, F. O. Efeitos da pentoxifilina sobre a viabilidade *in vitro* dos espermatozoides de equinos, após o resfriamento a 5°C. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, n.1, p.112-122, 2004.
- GRANGER, A. L.; WYATT, W. E.; CRAIG, W. N. *et al.* Effects of breed wintering diet on growth, puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in heifers. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.6, n.3, p.253-262. 1989.

- GREENHOFF, G. R.; KENNEY, R. M. Evaluation of reproductive status of nonpregnant mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.167, n.6, p.449-58, 1975.
- GRIFFIN, P. G.; GINTHER, O. J. Effects of day of estrous cycle, time of day, luteolysis, and embryo on uterine contractility in mares. *Theriogenology*, v.39, n.5, p.997-1008, 1993.
- GRUBAUGH, W. R.; SHARP, D. C.; BERGLUND, L. A. *et al.* Effects of pinealectomy in pony mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.293-295, 1982.
- GRÜNINGER, B; SCHOON, H. A.; SCHOON, D. *et al.* Incidence and morphology of endometrial angiopathies in mares relationship to age and parity. *J. Comp. Pathol.*, v.119, n.3, p.293-309, 1998.
- GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G.; BIERGE JR., E. H. Distúrbios da reprodução: alterações consequentes às interações entre o útero e o concepto. In: \_\_\_\_\_. *Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia*. São Paulo: Varela, 2005. Cap.10, p.465-488.
- GURGEL, J. R. C.; VIANA, C. H. C.; PEREZ, E. G. A.; NICHI, M. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.32, n.2, p.122-132, 2008.
- HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. *Reprodução animal*. 7.ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.
- HAFEZ, E. S. E. *Reproduction in farm animals*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1987.
- HAFEZ, S. E. *Reprodução animal*. 6. ed. São Paulo: Manole, 1995. cap.15 e 20, p.335-342, 431-447.
- HALUSKA, G. J.; CURRIE, W. B. Variation in plasma concentrations of oestradiol-17 $\beta$  and their relationship to those of progesterone, 13,14-dihydro-15 ketoprostaglandin F-2 $\alpha$  and oxytocin across pregnancy and at parturition in pony mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.84, n.2, p.635-646, 1988.
- HAMILTON, D. W.; ALLEN, W. R.; MOOR, R. M. The origin of the equine endometrial cups. III. Light and electron microscopic study of fully developed equine endometrial cups. *Anat. Rec.*, v.177, n.4, p.503-517, 1973.
- HEAP, R. B.; HAMON, M. H.; ALLEN, W. R. Oestrogen production by the preimplantation donkey conceptus compared with that of the horse and the effect of between-species embryo transfer. *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p.141-147, 1991.
- HEARN, P.; BONNETT, B.; SAMPER, J. Factors influencing pregnancy and pregnancy loss on one thoroughbred farm. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 39., 1993. *Proceedings ...* [s.l.]: AAEP, 1993. p.161-162.
- HEISKANEN, M. L.; HUHTINEN, M.; PIRHONEN, A. *et al.* Insemination results with slow-cooled stallion semen stored for 70 or 80 hours. *Theriogenology*, v.42, n.6, p.1043-1051, 1994.
- HELLANDER, J. C.; SAMPER, J. C.; CRABO, B. G. Fertility of a stallion with low sperm motility and a height incidence of an unusual sperm tail defect. *Vet. Rec.*, v.128, n.9, p.449-451, 1991.
- HEMBERG E, LUNDEHEIM N, EINARSSON S. Reproductive performance of Thoroughbred mares in Sweden. *Reprod. Com. Anim.*, v.39, n.2, p.81-85, 2004.
- HENDERSON, S. V.; CAPEWELL, V.; JOHNSON, W. Foal registration: transported versus non-transported semen. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 44., 1998, Baltimore. *Proceedings...* Baltimore: American Association of Equine Practitioners, 1998. p.7-11.
- HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology*, v.21, n.6, p.897-909, 1984.
- HENRY, M. R. J. M. *Some special aspects of the physiopathology of reproduction in mares*. 1981. 219f. Thesis - Rijksuniversiteit Gent, Faculteit Van de Diergeneeskunde, Voortplanting en Verloskunde Bij Grote Huisdieren.

- HENRY, M.; OLIVEIRA, M. M. F.; DIAZ, A. P. *et al.* Comportamento de jumentos no período de cortejo e ato sexual. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., 1987, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1987. p.71.
- HINRICHS, K.; SERTICH, P. L.; CUMMINGS, M. R.; KENNEY, R. M. Pregnancy in ovariectomized mares achieved by conceptus transfer: a preliminary study. *Equine Vet. J.*, suppl.3., p.74-76, 1985.
- HODGE, S.; KREIDER, J.; POTTER, G. *et al.* Influence of photoperiod on the pregnant and postpartum mare. *Am. J. Vet. Res.*, v.43, n.10, p.1752-1755, 1982.
- HOLT, W. V. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology*, v.53, p.47-58, 2000.
- HOLTAN, D. W.; HOUGHTON, E.; SILVER, M. *et al.* Plasma progestagens in the mare fetus and newborn foal. *J. Reprod. Fertil.*, suppl 44, p.517-528, 1991.
- HOLTAN, D. W.; NETT, T. M.; ESTERREEN, V. L. Plasma progesterone in pregnant mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl 23, p.419-424, 1975.
- HOLTAN, D. W.; SQUIRES, E. L.; LAPIN, D. R.; GINTHER, O. J. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl 27, p.457-463, 1979.
- HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.; EVANS, J. W. The oestrous cycle of the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.161-166, 1975.
- HUGHES, J. P. Curso de equinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte : CBRA, 1991.
- HUGHES, J. P.; LOY, R. G. Artificial insemination in the equine: a comparison of natural breeding and artificial insemination of mares using semen from six stallions. *Cornell Vet.*, v.60, n.3, p.413, 1969.
- HUGHES, J. P.; LOY, R. G. The relation of infection to infertility in the mare and stallion. *Equine Vet. J.*, v.7, n.3, p.155-159, 1975.
- HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.; EVANS, J. W. Clinical and endocrine aspects of the estrous cycle of the mare. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 29., 1972. *Proceedings ...* [s.l.]: AAEP, 1972a. p.119.
- HUGHES, J. P.; STABENFELDT, G. H.; EVANS, J. W. Estrous cycle and ovulation in the mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.161, n.11, p.1367-74, 1972b.
- HUHTINEN, M.; KOSKINEN, E.; SKIDMORE, J. A. *et al.* Recovery rate and quality of embryos from mares inseminated after ovulation. *Theriogenology*, v.45, n.4, p.719-726, 1996.
- HUNTER, R. H. F. Gamete lifespans in the mare's genital tract. *Equine Vet. J.*, v.22, n.6, p.378-379, 1990.
- HURTGEN, J. P. Evaluation of the stallion for breeding soundness. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.8, n.1, p.149-165, 1992.
- HURTGEN, J. P. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. *Theriogenology*, v.66, n.3, p.560-566, 2006.
- HUTTON, C. A.; MEACHAM, T. N. Reproductive efficiency on fourteen horse farms. *J. Anim. Sci.*, v.27, n.2, p.434-438, 1968.
- IRELAND, J. L. H.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; WINN, M. E. *et al.* Evidence for autocrine and paracrine roles of  $\alpha_2$ -macroglobulin in regulation of estradiol production by granulosa cells and development of dominant follicle. *Endocrinology*, v.145, n.6, p.2784-94, 2004.
- IRVINE, C. H. G., ALEXANDER, S.L.; MCKINNON, A.O. Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. *J. Reprod. Fertil.*, v.118, n.1, p.101-109, 2000.
- IRWIN, C. F. P. Early pregnancy testing and its relationship to abortion. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.485-488, 1975.
- JACOB, J. C. F.; ALBUQUERQUE, F. T.; DOMINGUES, M. B. *et al.* Taxa de gestação em éguas Mangalarga Marchador inseminadas pós-ovulação. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.24, n.1, p.51-55, 2000.

- JASKO, D. J.; HATHAWAY, J. A.; SCHALTENBRAND, V. L. *et al.* Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.37, n.6, p.1241-1252, 1992.
- JASKO, D. J.; MORAN, D. M.; FARLIN, M. E. *et al.* Effect of seminal plasma dilution or removal on spermatozoal motion characteristics of cooled stallion semen. *Theriogenology*, v.35, n.6, p.1059-1067, 1991.
- JEFFCOTT, LB, WHITWELL, KE. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the Thoroughbred mare. *J. Comp. Pathol.*, v.83, n.1, p.91-106, 1973.
- JEPSEN, R. J.; EVANS, L. E.; YOUNGS, C. R. Use of direct thaw insemination to establish pregnancies with frozen-thawed semen from a standard jack. *J. Equine Vet. Sci.*, v.30, n.11, p.651-656, 2010.
- JOHNSON, A. L. Gonadotropin-releasing hormone treatment induces follicular growth and ovulation in seasonally anestrous mares. *Biol. Reprod.*, v.36, n.5, p.1199-1206, 1987.
- JONKER, F. H. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. *Anim. Reprod. Sci.*, v.82-83, p.415-430, 2004.
- JORDÃO, L. P.; DE CAMARGO, M. X.; GOUVEIA, P. F. Eficiência, na reprodução, das éguas mulateiras da coudelaria paulista. *Bol. Ind. Anim.*, v.14, p.49-62, 1954.
- JORDÃO, P.; GOUVEIA, P. F. Eficiência reprodutiva do Puro Sangue Inglês em São Paulo. *Bol. Ind. Anim.*, v.11, n.1-2, p.23-55, 1950.
- KAMHI, S.; VARADIN, M. Time breeding and ovulation in mares relationship with conception arte in the mares. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5., 1964, Trento. *Proceedings...* Trento: [s.n.], 1964. v. 2, p.274-277.
- KANKOFER, M.; KOLM, G.; AURICH, J. *et al.* Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5°C. *Theriogenology*, v.63, n.5, p.1354-1365, 2005.
- KATILA, T. Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. *Biol. Reprod. Mono.*, v.1, p. 515-17, 1995.
- KATILA, T., ANDERSSON, M., REILAS, T. *et al.* Post-thaw motility and viability of fractioned and frozen stallion ejaculates. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.241-244, 2002.
- KATILA, T.; COMBES, G. B.; VARNER, D. D. *et al.* Comparison of three containers used for the transport of cooled stallion semen. *Theriogenology*, v.48, n.7, p.1085-1092, 1997.
- KATILA, T.; REILAS, T.; GÜVENC, K. *et al.* The effect of seminal plasma on motility characteristics and viability of spermatozoa after cooled storage. *Havemeyer Found. Monogr. Ser.*, v.13, p.3-5, 2004.
- KATILA, T; KOSKINEN, E.; KUNTSI, H. *et al.* Fertility after postovulatory inseminations in mares. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11., 1988, Dublin. *Proceedings...* Dublin: University College Dublin, 1988. v.2, abstr. 96. (Brief communications).
- KAWARSKY, S. J.; BASRUR, P. K.; STUBBINGS, R. B. *et al.* Chromosomal abnormalities in bovine embryos and their influence on development. *Biol. Reprod.*, v.54, n.1, p.53-59, 1996.
- KAYSER, J. P.; AMANN, R. P.; SHIDELER, R. K. *et al.* Effects of linear cooling rate on motion characteristics of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.38, n.4, p.601-614, 1992.
- KEDROV, V. K. Mating of mare with prolonged heat. *Anim. Breed. Abst.*, v.13, n.3, p.131, 1944 (Abstracts).
- KENNEY, R. M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.172, n.3, p.241-262, 1978.
- KENNEY, R. M.; BERGMAN, R. V.; COOPER, W. L. *et al.* Minimal contamination techniques for breeding. Technique and preliminary findings. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 21., 1976. *Proceedings...* [s.l.]: AAEP, 1976. p.327-336.



- KENNEY, R. M.; HURTGEN, J. P.; PIERSON, R. *et al.* *Society for theriogenology manual for clinical fertility evaluation of the stallion*. Hastings: Society for Theriogenology, 1983. 100p.
- KERBAN, A.; BOERBOOM, D.; SIROIS, J. Human chorionic gonadotropin induces an inverse regulation of steroidogenic acute regulatory protein messenger ribonucleic acid in the theca interna and granulosa cells of equine preovulatory follicles. *Endocrinology*, v.140, n.2, p.667-674, 1999.
- KILMER, D. M.; SHARP, D. C.; BERGLUND, L. A. *et al.* Melatonin rhythms in pony mares and foals. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.303-307, 1982.
- KING, S. S.; CAMPBELL, A. G.; DILLE, E. A. *et al.* Dopamine receptors in equine ovarian tissues. *Dom. Anim. Endocrinol.*, v.28, n.4, p.405-415, 2005.
- KING, W. A. Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, v.34, p.229-250, 1990.
- KLOPPE, L. H.; VARNER, D. D.; ELMORE, R. G. *et al.* Effect of insemination timing on the fertilizing capacity of frozen/thawed equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.29, n.2, p.429-439, 1988.
- KLUG, E.; TREU, H.; HILLMAN, H. *et al.* Results of insemination of mares with fresh and frozen stallion semen. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.107-110, 1975.
- KNOBIL, E.; NEIL, J. D. Equine chorionic gonadotropin. In: KNOBIL, E.; NEIL, J.D. (Eds.). *Encyclopedia of reproduction*. 2.ed. New York: Academic, 1998. p.29-36.
- KOSINIAK, K. Characteristics of the successive jets of ejaculated semen of stallions. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.59-61, 1975.
- KOSKINEN, E.; LINDEBERG, H.; KUNTSI, H. *et al.* Fertility of mares after postovulatory insemination. *Zentralbl. Veterinarmed. A.*, v.37, n.1, p.77-80, 1990.
- KOSSIN, C. *Klinische, bakteriologische, zytologische und histologische untersuchungen des genitaltraktes von warmblutstuter: line feldstudie zur uberprunfung der afohlprognose unter paxisbedingugem*. Hannover: Hannover Tierärztliche Hochschule, 1995. 138p apud *Anim. Breed. Abstr.*, v.64, n.10, p.71, 1996.
- KOTILAINEN, T.; HUHTINEN, M.; KATILA, T. Sperm-induced leucocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, v.41, n.3, p.629-636, 1994.
- KREUCHAUF, A. Reproductive physiology in the jackass. *Anim. Res. Dev.*, v.20, p.51-78, 1984.
- KRISANS, S. Cell compartmentalization of cholesterol biosynthesis. *Ann. NY Acad. Sci.*, v.804, p.142-164, 1996.
- KURTZ FILHO, M.; DEPRÁ, N. M.; ALDA, J. L. *et al.* Duração da gestação em relação à idade de éguas da raça Puro Sangue de Corrida, aos pesos do potro e da placenta, e ao horário do parto. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.34, n.1, p.37-40, 1997.
- KYDD, J. H.; BUTCHER, G. W.; ANTCZAK, D. F.; ALLEN, W. R. Expression of major histocompatibility complex MHC class I molecules on early trophoblast. *J. Reprod. Fertil.*, suppl 44, p.463-77, 1991.
- LAING, J. A. Observation on the survival of stored spermatozoa in the genital tract of the mare. *J. Agric. Sci.*, v.33, n.2, p.64-66, 1943.
- LAING, J. A.; LEECH, F. B. The frequency of infertility in thoroughbred mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl. 23, p.307-310, 1975.
- LAMMING, G. E.; WATHES, D. C.; FLINT, A. F. P. *et al.* Local action of trophoblast interferons in suppression of the development oxytocin and estradiol receptors in ovine endometrium. *J. Reprod. Fertil.*, v.105, p.165-175, 1995.
- LANGLOIS, B. Caractères quantitatifs chez le cheval: aspects genetiques: revue bibliographique. *Bull. Tech. Dep. Gen. Anim.*, n.16, p.36-38, 1973.

- LEÃO, J. F. S.; BIZUTTI, O.; AUGUSTO, C. *et al.* Níveis séricos da gonadotrofina da jumenta e da égua coberta por jumento e garanhão. *Bol. Ind. Anim.*, v.38, n.2, p.187-203, 1981.
- LEBLANC, M. M. *Persistent mating induced endometritis in the mare: pathogenesis, diagnosis and treatment.* International Veterinary Information Service. 2003. Disponível em: <www.ivis.org>.
- LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; JONES, L. *et al.* Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, v.50, n.1, p.49-54, 1998.
- LEE, B. M. S. Behavior problems of equids in zoos. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, v.2, n.3, p.653-665, 1986.
- LEGARDINIER, S.; CAHOREAU, C.; KLETT, D.; COMBARNOUS, Y. Involvement of eCG carbohydrate side chains in its bioactivity; lessons from recombinant hormone expressed in insect cells. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.45, p.225-259, 2005a.
- LEGARDINIER, S.; KLETT, D.; POIRIER, J. C. *et al.* Mammalian-like non-sialyl complex-type N-glycosylation of equine gonadotropins in Mimic™ insect cells. *Glycobiology*, v.15, n.8, p.776-790, 2005b.
- LEITE, S. V. F. *Influência do número de espermatozoides de jumento (Equus asinus) sobre a taxa de prenhez em éguas (Equus caballus) inseminadas a fresco.* 1994. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- LEITH, G. S.; GINTHER, O. J. Characterization of intrauterine mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology*, v.22, n.4, p.401-408, 1984.
- LENNARD, S. N.; GERSTENBERG, C.; ALLEN, W. R. *et al.* Expression of epidermal growth factor and its receptor in equine placental tissues. *J. Reprod. Fertil.*, v.112, n.1, p.49-57, 1998.
- LICHT, P.; BONA GALO, A.; AGGARWAL, B. B. *et al.* Biological and binding activities of equine pituitary gonadotropins and pregnant mare serum gonadotropin. *J. Endocrinol.*, v.83, n.3, p.311-322, 1979.
- LIMA, M. C. C. *Sêmen equino: efeito da diluição, resfriamento a 20°C e transporte sobre a fertilidade.* 1995. 121f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- LIMA, M. C. C.; SILVA FILHO, J. M.; CARVALHO, G. R. *et al.* Efeito do número de inseminações artificiais por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído, resfriado a 20°C e transportado. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, n.6, p.1649-1653, 2000.
- LINDEBERG, H.; KARJALAINEN, H.; KOSKINEN, E. *et al.* Quality of stallion semen obtained by a new semen collection phantom (Equidame®) versus a Missouri® artificial vagina. *Theriogenology*, v.51, n.6, p.1157-1173, 1998.
- LIU, I. K. ; SHIVERS, C. A. Antibodies to the zona pellucida in mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.309-313, 1982.
- LOOMIS, P. R. Factors affecting the success of artificial insemination with cooled, transported semen. In: ANNUAL CONFERENCE OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 38., 1992, ORLANDO. *Proceedings...* Orlando: American Association of Equine Practitioners, 1992. p.629-647.
- LOY, R. G. Reproductive performance in postpartum mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.642, 1982.
- LUCAS, J.; RAESIDE, I.; BETTERIDGE, K. J. Non-invasive assessment of the incidences of pregnancy and pregnancy loss in feral horses of Sable Island. *J. Reprod. Fertil.*, suppl 44, p.479-488, 1991.
- LUNN, P.; VAGNONI, K. E.; GINTHER, O. J. The equine immune response to endometrial cups. *J. Reprod. Immunol.*, v.34, n.3, p.203-216, 1997.

- MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE, B. V. E.; PINO, C. S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.327-34. 2003.
- MAGISTRINI, M. Semen evaluation. In: SAMPER, J. C. (Ed.). *Equine breeding management and artificial insemination*. Philadelphia: WB Saunders, 2000. p.91-108.
- MANJUNATH, P.; NAUC, V.; BERGERON, A. *et al.* Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. *Biol. Reprod.*, v.67, p.1250-1258, 2002.
- MANNING, A. W.; RAJKUMAR, K.; BRISTOL, F. *et al.* Genetic and temporal variation in serum concentrations and biological activity of horse chorionic gonadotrophin. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.389-97, 1987.
- MANNING, S. T.; BOWMAN, P.; CARD, C. E. Pregnancy rates and quality of commercial cooled transported equine semen. In: ANNUAL CONFERENCE OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, Montreal, 1998. *Proceedings...* Baltimore: Society for Theriogenology, 1998.
- MARSAN, C.; GOFF, A. K.; SIROIS, J. *et al.* Steroid secretion by different cell types of the horse conceptus. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.363-369, 1987.
- MARTIN, J. C. Regulation on oestrus cycle, particularly oestrus synchronization, in connection with artificial insemination in the horse. *Anim. Breed. Abstr.*, v.49, n.7, p.3703, 1981.
- MARTIN, J. C.; KLUG, E.; GÜNZEL, A. R. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.447-451, 1979.
- MARTINEZ, E. A.; VAZQUEZ, J. M.; ROCA, J. *et al.* Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. *Reproduction*, v.123, n.1, p.163-170. 2002
- MARTINUK, S. D.; BRISTOL, F.; MURPHY, B. D. Effects on the dam on eCG concentrations during pregnancy. *Dom. Anim. Endocrinol.*, v.5, p.551, 1990.
- MARTINUK, S. D.; MANNING, A. W.; BLACK, W. D.; MURPHY, B. D. Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of eCG in vivo. *Biol. Reprod.*, v.45, n.4, p.598-604, 1991.
- MATTOS, R. C. Influência de diferentes métodos de preservação de sêmen equino sobre a fertilidade, motilidade espermática e contaminação bacteriana. 1995. 114f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós Graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.
- MATTOS, R. C.; CAVALHEIRO, E. P.; MATTOS, R. C. *et al.* Monta natural e inseminação artificial com sêmen fresco diluído em éguas Árabe. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.24, n.2, p.57-64, 1996.
- MATTOS, R. C.; MEIRELLES, L. S.; MALSCHITZKY, E. *et al.* Oxytocin, plasma containing leukocytes or combination of both as treatment of postbreeding endometritis. *Pferdheilkunde*, v.15, n.6, p.584-587, 1999.
- MATTOS, R. C.; ROCHA, A.; GREGORY, R. M. *et al.* Relação entre aspectos clínicos e taxas de gestação no cio do potro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. p.469.
- MCCUE, P. M. Superovulation. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.12, n.1, p.1- 11, 1996.
- MCDONNELL, S. M. Techniques for extending the breeding career of aging and disabled stallions. *Clin. Tech. Equine Pract.*, v.4, n.4, p.269-276, 2005.
- MCDOWELL, K. Factors affecting reproductive success in broodmares. Alberta, Canada: Government Department / Agriculture and Rural Development. Disponível em: <[www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/hrs6946](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/hrs6946)>.
- MCDOWELL, K. J.; POWELL, D. G.; BAKER, C. B. Effect of book size and age of mare and stallion on foaling rates in thoroughbred horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v.12, n.6, p.364-367, 1992.

- McDOWELL, K. J.; SHARP, D. C.; GRUBAUGH, W. *et al.* Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance in mares. *Biol. Reprod.*, v.39, n.2, p.340-348, 1988.
- MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Morphologic assessment of the equine embryo. *J Am Vet Med Assoc.*, v.192, n.3, p.401-406, 1988.
- MCKINNON, A. O. *Artificial insemination of cooled, transported and frozen semen.* Sidney: Bain-Fallon lectures, 1996. p.319-377.
- MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. *Equine reproduction.* Baltimore: Williams & Wilkins, 1993. 1137p.
- MEIRA, C.; FERREIRA, J. C. P.; PAPA, F. O. *et al.* Ovarian activity and plasma concentrations of progesterone and estradiol during pregnancy in jennies. *Theriogenology*, v.49, n.8, p.1465-1473, 1998.
- MELLO, S. L. V.; HENRY, M.; SOUZA, M. C. *et al.* Effect of split ejaculation and seminal extenders on longevity of donkey semen preserved at 5°C. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, n.4, p.372-378, 2000.
- MELROSE, P. A.; WALKER, R. F.; DOUGLAS, R. H. Dopamine in the cerebrospinal fluid of prepubertal and adult horses. *Brain Behav. Evol.*, v.35, n.2, p.98-106, 1990.
- MERKT, H. Exame andrológico e problemas de cobertura no garanhão: esquema para o exame andrológico. In: ENCONTRO NACIONAL DE EQUIDECULTURA, 4., 1986, São Paulo. *Anais.....* São Paulo: Sociedade Brasileira de Hipologia, 1986. p.33-34.
- MERKT, H. Foal heat and embryonic resorption. *Zuchthygiene*, v.1, p.102-108, 1966 apud *Anim. Breed. Abstr.*, v.35, n.2, p.195.
- MERKT, H.; GÜNZEL, A. R. A survey of early pregnancy losses in West German Thoroughbred mares. *Equine Vet. J.*, v.11, n.4, p.256-258, 1979.
- METCALF, E. S. Maximizing reproductive efficiency in private practice: the management of mares and the use of cryopreserved semen. In: ANNUAL CONFERENCE SOCIETY THERIOGENOLOGY, 1995, San Antonio. *Proceedings...* Texas: Soc. Theriogenology, 1995. p.155-159.
- MIES FILHO, A. *Inseminação artificial.* 6 ed. Porto Alegre: Sulina, 1987 v.2, 750p.
- MIHM, M.; BLEACH, E. C. L. Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.217-237, 2003.
- MILLER, K. F.; WESSON, J. A.; GINTHER, O. J. Changes in concentrations of circulating gonadotropins following administration of equine follicular fluid to ovariectomized mares. *Biol. Reprod.*, v. 21, n.4, p.867-872, 1979.
- MITCHELL, D.; ALLEN, W. R. Observations on reproductive performance in the yearling mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.531-536, 1975.
- MOBERG, R. The occurrence of early embryonic death in the mare in relation to natural service and artificial insemination with fresh or deep-frozen semen. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.537-539, 1975.
- MONGET, P.; MONNIAUX, D. Growth factors and the control of folliculogenesis. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v.49, p.321-333, 1995.
- MORAIS, R. N. *Contribuição ao estudo da biologia reprodutiva de jumentos (Equus asinus).* 1990. 105f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- MORAIS, R. N.; MUCCILOLO, R. G.; VIANA, W. G. Biologia reprodutiva de jumentos. III. pH, osmolaridade e níveis de eletrólitos no sêmen. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.31, n.2, p.145-151, 1994.
- MORAN, D. M.; JASKO, D. J.; SQUIRES, E. L. *et al.* Determination of temperature and cooling rate which induce cold shock in stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.38, n.6, p.999-1012, 1992.
- MORRIS, L. H. A.; ALLEN, W. R. Reproductive efficiency of intensively managed thoroughbred mares in newmarket. *Equine Vet. J.*, v.34, n.1, p.51-60, 2002.
- MURDOCH, W. J.; PETERSON, T. A.; VAN KIRK, E. A. *et al.* Interactive roles of progesterone, prostaglandins, and collagenase in the ovulatory mechanism of the ewe. *Biol. Reprod.*, v.35, n.5, p.1187-1194, 1986.

- MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotrophin. *Endocr. Rev.*, v.12, n.1, p.27-44, 1991.
- MURRELL, S. L. *Efficacy of oral altrenogest for postponing ovulation in the mare*. 2003. 86f. Master of Science - Texas A&M University, Texas, USA
- NADEN, J.; SQUIRES, E. L.; NETT, T. M. Effect of maternal treatment with altrenogest on age at puberty, hormone concentrations, pituitary response to exogenous GnRH, oestrous cycle characteristics and fertility of fillies. *J. Reprod. Fertil.*, v.88, n.1, p.185-195, 1990.
- NAGASE, H.; GRAHAM, E. F. Pellet semen: comparison of different extenders and processes on fertility of bovine spermatozoa. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5., Trento, 1964. *Proc...* Trento: [s.n.], 1964. p.387-391.
- NAGASE, H.; SOEJIMA, A.; NIWA, T. *et al.* Studies on the freezing storage of stallion semen. I. Fertility results of stallion frozen semen in concentrated pellet form. *Jpn. Soc. Anim. Reprod.*, v.12, n.2, p.48-51, 1966.
- NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-61, p.245-262, 2000.
- NEELY, D. P.; LIU, I. K. M.; HILLMAN, R. B. *Equine reproduction*. New Jersey: Hoffmann-La Roche, 1983. 90 p
- NETT, T. M.; PICKETT, B. W. Effect of diethylstilboestrol on the relationship between LH, PMSG and progesterone during pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.465-470, 1979.
- NEVES, E. S.; GARCIA, H. C.; FRANÇA, L. R. Comparative testis morphometry and seminiferous epithelium cycle length in donkeys and mules. *Biol. Reprod.*, v.67, n.1, p.247-255, 2002.
- NEWCOMBE, J. R. Embryonic loss and abnormalities of early pregnancy. *Equine Vet Educ.*, v.12, n.2, p.88-101, 2000.
- NEWCOMBE, J. R.; MARTINEZ, T. A.; PETERS, A. R. The effect of the gonadotropinreleasing hormone analog, buserelin, on pregnancy rates in horse and pony mares. *Theriogenology*, v.55, n.8, p.1619-1631. 2001.
- NISHIKAWA, Y. Development of the reproductive glands and sexual maturity in horses. In: Studies on reproduction in horses singularity and artificial control in reproductive phenomena. Tokio: Japan Racing Association, 1959. Cap. 1, p. 21-26.
- NISHIKAWA, Y. Studies on preservation of raw and frozen semen. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.99-104, 1975.
- NISHIKAWA, Y.; SUGIE, T. Studies on the resistance of horse spermatozoa. II. Resistance to temperature. *Anim. Breed. Abst.*, v.19, n.1, 1951.(Abstract, 50).
- NISWENDER, G. D.; JUENDEL, J. L.; SILVA, P. J. *et al.* Mecanismos que controlan la function y el period de vida del corpo luteo. *Physiol. Rev.*, v.80, n.1, p.1-29, 2000.
- NUNES, D. B.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; SILCA, E. V. C. Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmen refrigerado. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.30, n.1/2, p.42-56, 2006.
- OEHNINGER, S.; ACOSTA, A.A.; MORSHEDI, M. *et al.* Corrective measures and pregnancy outcome in in vitro fertilization in patients with severe sperm morphology abnormalities. *Fert. Ster.*, v.50, n.2, p.283-287, 1988.
- OLIVEIRA, F. R. A. P.; LEÃO, J. F. S.; AUGUSTO, C. *et al.* Incidência da perda precoce da prenhez em éguas da raça Mangalarga. *Bol. Ind. Anim.*, v.43, n.2, p.349-358, 1986.
- OLIVEIRA, F. R. A. P.; TONHATI, H.; TOLEDO, L. R. A. *et al.* Comportamento reprodutivo de potras das raças Mangalarga e Bretão. *Bol. Ind. Anim.*, v. 45, n.1, p.141-155, 1988.
- OLIVEIRA, J. V.; ALVARENGA, M. A.; MELO, C. M. *et al.* Effect of cryoprotectant on donkey semen freezability and fertility. *Anim. Reprod. Sci.*, v.94, n.1, p.82-84, 2006.

- OLIVEIRA, R. A. *Índice de prenhez com sêmen congelado de garanhões crioulos usando glicerol ou dimetilformamida como crioprotetores*. 2007. 47f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- ORIOU, J. G.; SHAROM, F. J.; BETTERIDGE, K. J. Developmentally regulated changes in the glycoproteins of the equine embryonic capsule. *J Reprod Fertil*, v.99, n.2, p.653-664, 1993.
- OSBORNE, V. E. An appraisal of the efficiency of the official months of the Thoroughbred and Standardbred stud season in Australia. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 6., 1968. Paris. *Proceedings...* Paris: [s.n.], 1968. p.1593 -1595.
- OSBORNE, V. E. Analysis of the pattern of ovulation as it occurs in the annual reproductive cycle of the mare in Australia. *Aust. Vet. J.*, v.42, n.5, p.149-54, 1966.
- PACE, M. M.; GRAHAM, E. F. Components in egg yolk wich protect bovine spermatozoa during freezing. *J. Anim. Sci.*, v.39, n.6, p.1144-1149, 1974.
- PACE, M. M; SULLIVAN, J. J. Effect of timing of insemination, numbers of spermatozoa and extender components on the pregnancy rate in mares inseminated with frozen stallion semen. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.115-121, 1975.
- PALHARES, M. S. Fertilidade e controle. *Cavalo Marchador*, v.1, p.9-10, 1987.
- PALHARES, M. S. *Influência de um novo container para o transporte do sêmen equino diluído e resfriado: I-Characterísticas termodinâmicas e funcionais, II-Desempenho reprodutivo de éguas inseminadas*. 1997. 245f. Dissertação (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- PALHARES, M. S.; SILVA FILHO, J. M.; OLIVEIRA Jr., E. F. *et al*. Inseminação artificial em jumentas da raça Pega com cio induzido pelo Dinoprost. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.10, n.3, p.157-163, 1986.
- PALHARES, M. S.; SILVA FILHO, J. M.; VALE FILHO, V. R. *et al*. Efeito do intervalo inseminação/ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e transportado. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu, SP. Anais ... Botucatu: SBZ, 1998. p.49-51.
- PALHARES, M.S. *Avaliação da atividade ovariana e eficiência reprodutiva de potras e éguas da raça Mangalarga Marchador*. 1989. 89f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- PALMER, E. Factors affecting stallion semen survival and fertility. In : INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 10., 1984, Urbana, *Proceedings...* Urbana: University of Illinois, 1984. v.3, p.377-379.
- PALMER, E.; DRIANCOURT, M. A.; ORTAVANT, R. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrus. *J. Reprod. Fertil.*, v.32, p.275–282, 1982.
- PALMER, E.; FAUQUENOT, A. Mesure et prediction de la fertilité des étalons: étude méthodologiques. In: JARRIGE, R.; MARTIM-ROSSET, W (Eds). *Le cheval: reproduction selection, alimentation, exploitation*. Paris: INRA, 1984. p.113-127.
- PANCHAL, M. T.; GUJARATI, M. L.; KAVANI, F. S. Study of some of the reproductive traits of Kathi mares in Gujarat state. *Indian J. Anim. Reprod.*, v.16, n.1, p.47-49, 1995.
- PAPA, F. O. *Contribuição ao estudo da utilização de sêmen congelado de equinos: modificações metodológicas para o congelamento e inseminação artificial*, 1987. 150f. Tese (Tese Livre Docência em Reprodução Animal) – Departamento de Radiologia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.
- PAPA, F. O.; ALVARENGA, M. A.; DELL'AQUA JR, J. A. *Manual de andrologia e manipulação de sêmen equino*. São Paulo: [s.n.], 2007. 32p.

- PAPA, F. O.; LOPES, M. D.; ALVARENGA, M. A. *et al.* Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.35, n.4, p.170-173, 1998.
- PAPA, F. O.; MEIRA, C.; SIMON, J. J. *et al.* Pregnancies in mares using donkey (*Equus asinus*) frozen semen. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.27, p.262, 1999.
- PAPKOFF, H. Relationship of PMSG to the pituitary gonadotropins. In: SREENAN, J. M. (Eds.). *Control of reproduction in the cow*. The Hague Martinus Nijhoff, 1978.
- PAPKOFF, H.; BEWLEY, T.A.; RAMACHANDRAN, J. Physiocochemical and biological characterization of pregnant mare serum gonadotropin and its subunits. *Bioch. Bioph. Acta*, v.532, n.1, p.532-185, 1978.
- PARKINSON, T. J. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. *Vet. J.*, v.168, n.3, p.215-229, 2004.
- PASCOE, R. R. Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.299-305, 1979.
- PASHEN, R. L.; ALLEN, W. R. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.499-509, 1979.
- PENZHORN, B. L.; BERTSCHINGER, H. J.; COUBROUGH, R. I. Reconception of mares following termination of pregnancy with prostaglandin F<sub>2α</sub> before and after day 35 of pregnancy. *Equine Vet. J.*, v.18, n.3, p. 215-217, 1986.
- PÉREZ, C.; RODRIGUEZ, I.; SANZ, J. *et al.* Factores que influyen en la duración de la gestación y peso de la placenta al parto, en el Pura Raza Español (SPB), estirpe cartujana. *Arch. Reprod. Anim.*, v.3, p.78-85, 1997.
- PÉREZ, C.; RODRIGUEZ, J.; MOTA, J. *et al.* Gestation length in Carthusian Spanishbred mares. *Livest. Prod. Sci.*, v.82, n.2, p.181-187, 2003.
- PHILLIPS, P. H. The preservation of bull semen. *J. Biol. Chem.*, v.130, p.415, 1939.
- PHILLIPS, P.; LARDY, A. L. A yolk-buffer pabulum for the preservation of bull semen. *J. Dairy Sci.*, v.23, n.5, p.399-404, 1940.
- PIAO, S.; WANG, Y.; CHENG, Y. A study of the technique of freezing concentrated semen of horses (donkeys) and the aspect of insemination. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11., 1988. *Proceedings ...* Dublin: ICAR, 1988.
- PICKETT, B. W. The stallion: retrospective analysis and opinions. *Biol. Reprod. Mono*, n.1, p.547-564, 1995.
- PICKETT, B. W.; BACK, D. G.; BURWASH, L. D. The effect of extenders, spermatozoal numbers and rectal palpation on equine fertility. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 5., Columbia, 1974. *Proceedings....* Columbia: [s.n.], 1974, p.47-58.
- PICKETT, B. W.; BURWASH, L. D.; VOSS, J. L. *et al.* Effect of seminal extender on equine fertility. *J. Anim. Sci.*, v.40, n.6, p.1136-1146, 1975a.
- PICKETT, B. W.; FAULKNER, L. C.; SEIDEL, G. E. *et al.* Reproductive physiology of the stallion. VI. Seminal and behavioral characteristics. *J. Anim. Sci.*, v.43, n.3, p.617-625, 1976.
- PICKETT, B. W.; FAULKNER, L. C.; SUTHERLAND, T. M. Effect of month and stallion on seminal characteristics and sexual behavior. *J. Anim. Sci.*, v.31, n.4, p.713-728, 1970.
- PICKETT, B. W.; SHINER, K. A. Recent developments in artificial insemination in horses. *Livest. Prod. Sci.*, v.40, n.1, p.31-36, 1994.
- PICKETT, B. W.; SQUIRES, E.L.; MCKINNON, A. O. *et al.* *Procedures for collection, evaluation and utilization of stallion semen for artificial insemination*. Fort Collins: Colorado State University Animal Reproduction Laboratory, 1987. 125p. (Bulletin, 03).
- PICKETT, B. W.; VOSS, J. L. The effect of semen extenders and sperm number on mare fertility. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.95-98, 1975.

- PIERSON, R. A. Folliculogenesis and ovulation. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.161-171.
- PIGONIOWA, H. Investigation on the secretion of gonadotropic hormone in pregnant mares. *Anim. Breed. Abstr.*, v.31, n.3, 1963. (Abstract 314).
- PIMENTEL, C. A. Aspectos da patologia espermática e a fertilidade no garanhão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8., 1989, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1989. p.127-132.
- PLATT, H. *A survey of perinatal mortality and disorders in the thoroughbred*. Newmarket, England: Equine Research Station of the Animal Health Trust, 1979.
- PLATT, H. Aetiological aspects of abortion in the Thoroughbred mare. *J. Comp. Pathol.*, v.83, n.2, p.199-205, 1973.
- POOL-ANDERSON, K.; RAUB, R. H.; WARREN, J. A. Maternal influences on growth and development of full-sibling foals. *J. Anim. Sci.*, v.72, n.7, p.1661-1666, 1994.
- PROVINCE, C. A.; SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W. *et al.* Cooling rates, storage temperature and fertility of extended equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.23, n.6, p.925-934, 1985.
- PYCOCK, J. F.; NEWCOMBE, J. R. The Effect of the Gonadotropin- Releasing-Hormone Analog, Buserelin, Administered in Diestrus on Pregnancy Rates and Pregnancy Failure in Mares. *Theriogenology*, v.46, n.6, p.1097-1101, 1996.
- RABELO, M. C. Perda do concepto de éguas da raça Mangalarga Marchador em diferentes status reprodutivos após a inseminação artificial e transferência de embriões. 2009. Tese (Medicina Veterinária)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE.
- RAESIDE, J. I.; CHRISTIE, H. L.; RENAUD, R. L. *et al.* Estrogen metabolism in the equine conceptus and endometrium in early pregnancy. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.817-820, 2002.
- RAESIDE, J. I.; CHRISTIE, H. L.; RENAUD, R. L. *et al.* Estrogen metabolism in the equine conceptus and endometrium during early pregnancy in relation to estrogen concentrations in yolk-sac fluid. *Biol. Reprod.*, v.71, n.4, p.1120- 1127, 2004.
- RAESIDE, J. I.; LIPTRAP, R. M.; MILNE, F. J. Relationship of fetal gonads to urinary estrogen excretion by the pregnant mare. *Am. J. Vet. Res.*, v.34, n.6, p.843-845, 1973.
- RAMBAGS, B. P. B.; VAN BOXTEL, D. C. J.; THARASANIT, T. *et al.* Maturation in vitro leads to mitochondrial degeneration in oocytes recovered from aged but not young mares. *Anim. Reprod. Sci.*, v.94, n.1-4, p.359-361, 2006.
- RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C. O.; HONARAMOOZ, A. *et al.* Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.259-270. 2003.
- REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P. Angiogenesis in the ovary *Rev. Reprod.*, v.1, n.1, p.182-192, 1996.
- REINER, U. R.; YUNES, C. M.; REINER, C. Cio do Potro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., 1987, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1988. p.400-407.
- RENSIS, F. D.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review. *Theriogenology*, v.60, n.6, p.1139-1151, 2003.
- RESENDE, J. *Atividade ovariana em éguas abatidas em matadouro durante as fases do ciclo estral, nas estações seca e chuvosa em Minas Gerais*. 1974. 40f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- RICKETTS, S. W. Uterine structural normality and abnormalities. In: RICKETTS, S. W. *Equine stud medicine course*. 10.ed. Newmarket British Equine Veterinary Association., 2005. p.70-77.
- RIGAU, T.; RIVERA, M.; PALOMO, M. J. *et al.* Differential effects of glucose and fructose on hexose metabolism in dog spermatozoa. *Reproduction*, v.123, n.4, p.579-591, 2002.



- ROBERTS, R. M.; CHEN, Y.; EZASHI, T. *et al.* Interferons and the maternal-conceptus dialog in mammals. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, v.19, n.2, p.170-177, 2008.
- ROCHA, A. N. Taxas de prenhez e perda embrionária precoce em programa comercial de transferência de embriões em éguas da raça Mangalarga Marchador. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 17., 2007, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2007. p.160.
- RODGER, F. E.; ILLINGWORTH, P. J.; WATSON, E. D. Immunolocalization of P450C17 in the mare corpus luteum. *Theriogenology*, v.50, n.2, p.321-333, 1998.
- ROLLINS, W. C.; HOWELL, C. E. Genetic sources of variation in the gestation length of the horse. *J. Anim. Sci.*, v.10, n.4, p.797, 1951.
- ROPIHA, R. T.; MATTHEWS, R. G.; BUTTERFIELD, R. M. The duration of pregnancy in Thoroughbred mares. *Vet. Rec.*, v.84, n.22, p.552-555, 1969.
- ROSER, J. F.; LOFSTEDT, R. M. Urinary eCG patterns in the mare during pregnancy. *Theriogenology*, v.32, n.4, p.607-622, 1989.
- ROSSDALE, P. D.; OUSEY, J. C.; SILVER, M. *et al.* Studies on equine prematurity guidelines for assessment of foal maturity. *Equine Vet. J.*, v.16, n.4, p.300-302, 1984.
- ROSSI, R. *Comparação de dois diluidores na fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco ou resfriado.* 2008. 209f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- ROUSSET, H.; CHANTELAUBE, C.; MAGISTRINE, M. Assessment of fertility and semen evaluation of stallion. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.25-31, 1987.
- ROWLANDS, I. W. Serum gonadotrophin and ovarian activity in the pregnant mare. *J. Endocrinol.*, v.6, p.184-191, 1949.
- ROZAS, A. L. A. G. *Actuaciones para la conservación del asno zamorano-leonés. Inseminación artificial con semen refrigerado y congelado.* 2005. 285f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Espanha.
- SALTIEL, A.; CALDERON, A.; GARCIA, N. *et al.* Ovarian activity in the mare between latitude 15° and 22° N. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.261-267, 1982.
- SALTIEL, A.; GUTIERREZ, A.; DE BUEN-LLADO, N. *et al.* Cervical endometrial cytology and physiological aspects of postpartum mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.305-309, 1987.
- SAMPER, J. C.; HELLANDER, J. C.; CRABO, B. G. Relationship between the fertility of fresh and frozen semen and semen quality measured as sperm motility and with glass wool/sephadex filters. *J. Reprod. Fertil.*, suppl. 44, p.107-114, 1991.
- SAMPER, J. C.; PYCOCK, F. J.; MCKINNON, A. *Current therapy in equine reproduction.* St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p.397-398.
- SAMUEL, C. A.; ALLEN, W. R.; STEVEN, D. H. Ultra-structural development of the equine placenta. *J. Reprod. Fertil.*, suppl 23, p.575-578, 1975.
- SÁNCHEZ, A.; DÍAZ, O.; GATICA, R. Algunas consideraciones sobre la duración de la gestación en la yegua. *Arch. Reprod. Anim.*, v.8, p.18-23, 1999.
- SANTOS, G. F. *Efeito do método e de taxas de resfriamento sobre características físicas e morfológicas dos espermatozoides de jumentos (equus asinus), preservado a 5° C.* 1994. 82f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SANTSCHI, E. M., SLONE, D. E.; GRONWALL, R.; JUZWIAK, J. S.; MOLL, H. D. *et al.* Types of colic and frequency of postcolic abortion in pregnant mares: 105 cases (1984-1988). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.199, n.3, p.374-377, 1991.
- SAVARD, K. The oestrogens of the pregnant mare. *Endocrinology*, v.68, n.3, p.411-416, 1961.

- SCHAMS, D.; BERISHA, B., KOSMANN, M. *et al.* Expression and localization of IGF family members in bovine antral follicles during final growth and in luteal tissue during different stages of estrous cycle and pregnancy. *Dom. Anim Endocrinol*, v.22, n.1, p.51-72, 2002.
- SCHAMS, D.; KOSMANN, M.; BERISHA, B. *et al.* Stimulatory and synergistic effects of luteinising hormone and insulin like growth factor 1 on the secretion of vascular endothelial growth factor and progesterone of cultured bovine granulosa cells. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, v.109, n.3, p.155-162, 2001.
- SCHERMERHORN, E. C., VAN VLECK, L. D., ROUNSAVILLE, T. R. *Heritabilities of reproductive performance and gestation length in a sample of Standardbred*. Ithaca, NY: Department of Animal Science, Cornell University, 1980.
- SCHOON, H. A.; SCHOON, D.; KLUG, E. Uterusbiopsen als Hilfsmittel für diagnose und pronose von fertilitätsstörungen der stute. *Pferdeheilkunde*, v.8, n.6, p.355-362, 1992.
- SERRES, C.; RODRIGUEZ, A.; ALVAREZ, A. L. *et al.* Effect of centrifugation and temperature on the motility and plasma membrane integrity of zamorano-leonés donkey semen. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.329-332, 2002.
- SHARP, D. C. The early fetal life of the equine conceptus. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-61, p.679-689, 2000.
- SHARP, D. C. Transition into the breeding season: clues to the mechanisms of seasonality. *Equine Vet. J.*, v.20, n.3, p.159-161, 1988.
- SHARP, D. C.; DAVIS, S. D. Vernal transition. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger. 1993. p.133-143.
- SHARP, D. C.; GINTHER, O. J. Stimulation of follicular activity and estrous behaviour in anestrus mares with light and temperature. *J. Anim. Sci.*, v.41, n.5, p.1368-1372, 1975.
- SHARP, D. C.; GRUBAUGH, W. R.; WEITHENAUER, J. *et al.* Effects of steroid administration on pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in ovariectomized pony mares in the early spring; pituitary responsiveness to gonadotrophin-releasing hormone and pituitary gonadotrophin content. *Biol. Reprod.*, v.44, n.6, p.982-990, 1991.
- SHARP, D. C.; VERNON, M. W.; ZAVY, M. T. Alterations of seasonal reproductive patterns in mares following superior cervical ganglionectomy. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.27, p.87-93, 1979.
- SHERMAN, G. B.; WOLFE, M. W.; FARMERIE, T. A. *et al.* A single gene encodes the  $\beta$  subunits of equine luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *Mol Endocrinol.*, v.6, n.6, p.951-9, 1992.
- SHIRAZI, A.; GHARAGOZLOO, F.; NIASARI-NASLAJI, A. *et al.* Ovarian follicular dynamics in caspian mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.22, n.5, p.208-211, 2002.
- SHIVERS, C. A.; LIU, I. K. Inhibition of sperm binding to porcine ova by antibodies to equine zonae pellucidae. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.315-318, 1982.
- SHORT, R. V. Implantation and the maternal recognition of pregnancy. In: FOETAL anatomy. Churchill, London: Ciba Foundation, 1969. p. 2-26.
- SIEME, H.; KATILA, T.; KLUG, E. Effect of semen collection practices on sperm characteristics before and after storage and on fertility of stallions. *Theriogenology*, v.61, n.4, p.769-784, 2004.
- SIEME, H.; SCHAFFER, T.; STOUT, T. A. E. *et al.* The effects of different insemination regimes on fertility in mares. *Theriogenology*, v.60, n.6, p.1153-1164, 2003.
- SILBERZAHN, P.; ZWAIN, I.; MARTIN, B. Concentration increased of unbound testosterone in the plasma of the mare throughout pregnancy. *Endocrinology*, v.115, n.1, p.416 - 19, 1984.
- SILVA FILHO, J. M.; SANTIAGO, M.L.D.; PALHARES, M.S.; MELO, M.A.; MAGNAGO, L.G.P. 1994. Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen "in natura" ou diluído no diluidor de mínima contaminação. Ver. Brasil. Reprod. Anim. 18, 69-80.
- SILVA FILHO, J. M.; FONSECA, F. A.; PALHARES, M. S.; OLIVEIRA, H. N. Fertilidade do sêmen equino diluído, resfriado e transportado. *Rev. Bras. Zootec.*, v.26, n.6, p.1134-1141, 1997.

- SILVA FILHO, J. M.; FONSECA, F. A.; CARVALHO, G. R. *et al.* Efeito da frequência de inseminações sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1991. p. 366.
- SILVA FILHO, J. M.; PALHARES, M. S.; BERGMANN, J. A. G. *et al.* Inseminação artificial em equinos incluindo transporte de sêmen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1987. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1987. p.98.
- SILVA FILHO, J. M.; VALLE, G. R.; SATURNINO, H. M. *et al.* Influência do intervalo entre a inseminação artificial com sêmen diluído resfriado e transportado e a ovulação sobre a fertilidade de éguas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.50, n.5, p.563-568, 1998.
- SILVA, M. D. *Influência de dois sistemas de cobertura após a ovulação, sobre a fertilidade de éguas, reabsorção embrionária e sexo dos produtos.* 1995. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SILVA, M. I .F. Viabilidade do uso da inseminação artificial em equinos à nível industrial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., Belo Horizonte, 1988. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1988. p.47-63.
- SIROIS, J.; KIMMICH, T. L.; FORTUNE, J. E. Developmental changes in steroidogenesis by equine preovulatory follicles: effect of equine LH, FSH, and CG. *Endocrinology*, v.127, n.5, p.2423-2430, 1990.
- SIROIS, J.; KIMMICH, T. L.; FORTUNE, J. E. Steroidogenesis by equine preovulatory follicles: relative roles of theca interna and granulosa cells. *Endocrinology*, v.128, n.2, p.1159-1166, 1991.
- SKIDMORE, J.; BOYLE, M. S.; CRAN, D.; ALLEN, W. R. Micromanipulation of equine embryos to produce monozygotic twins. *Equine Vet.*, v.3, suppl.8, p.126-128, 1989.
- SMITH, K. C.; BLUNDEN, A. S.; WHITWELL, K. E. *et al.* A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. *Equine Vet. J.*, v.35, n.5, p.496-501, 2003.
- SMITH, M. J.; JENNES, L. Neural signals that regulate GnRH neurones directly during the oestrous cycle. *Reproduction*, v.122, n.1, p.1-10, 2001.
- SNEDCOR, G. W.; COCHRAN, W. G. *Statistical methods.* Ames: Iowa State University, 1980. 505p.
- SNYDER, D. A.; TURNER, D. D.; MILLER, K. F., *et al.* Follicular and gonadotrophic changes during transition from ovulatory to anovulatory seasons. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 27 p. 95-101, 1979.
- SOUZA, F. A. A.; TOLEDO, L. R. A.; LIMA, C. G. Ocorrência de perda embrionária precoce em éguas da raça Mangalarga acasaladas por monta natural ou submetidas a inseminação artificial. *ARS Vet.*, v.17, n.3, p.183-189, 2001.
- SOUZA, F. A. *Taxa de concepção de éguas cobertas 12 ou 24 horas após a ovulação.* 2007. 86f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SPICER, L. J.; CHAMBERLAIN, C. S. Production or insulin-like growth factor I by granulosa cells but not thecal cells is hormonally responsive in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.78, n.11, p.2919-2926, 2000.
- SPICER, L. J.; ECHTERNKAMP, S. E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with emphasis on domestic animals. *Dom. Anim. Endocrinol.*, v.12, n.3, p.223-245, 1995.
- SQUIRES, E. L. Endocrinology of pregnancy. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. (Eds.). *Equine reproduction.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. pp 495-500.
- SQUIRES, E. L.; BARNES, C. K.; ROWLEY, H. S. *et al.* Effect of uterine fluid and volume of extender on fertility. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v. 35, p. 25-30, 1989.
- SQUIRES, E. L.; BRUBAKER, J. K.; MC CUE, P. M. *et al.* Effect of sperm number and frequency of insemination on fertility of mares inseminated with cooled semen. *Theriogenology*, v.49, n.4, p.743-749, 1998.

- SQUIRES, E. L.; DOUGLAS, R. H.; STEFFENHAGEN, W. P.; GINTHER, O. J. Ovarian changes during the estrous cycle and pregnancy in mares. *J. Anim. Sci.*, v.38, n.2, p.330-338, 1974.
- SQUIRES, E. L.; GARCIA, R. H.; GINTHER, O. J. *et al.* Comparison of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone for superovulating mares. *Theriogenology*, v.26, n.5, p.661-670, 1986.
- SQUIRES, E. L.; GINTHER, O. J. Follicular and luteal development in pregnant mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.429-433, 1975.
- SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W.; AMANN, R. P. Effect of successive ejaculation on stallion seminal characteristics. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.7-12, 1979.
- SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W.; GRAHAM, J. K. *et al.* Biology and structure of spermatozoa and their response to cooling. In: COOLED and frozen stallion semen. Fort Collins: Colorado State University, 1999. p.53-60 (College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, n.9).
- SQUIRES, E. L.; VOSS, J. L.; VILLAHOZ, M. D.; SHIDELER, R. K. Use of ultrasound in broodmares reproduction. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 1984, Nevada. *Proceedings...* [s.l.]: American Association of Equine Practitioners, 1984. p. 27-43.
- STEFFENHAGEN, W. P.; PINEDA, M. H.; GINTHER, O. J. Retention of unfertilized ova in uterine tubes of mares. *Am. J. Vet. Res.*, v.33, p. 2391-2398, 1972.
- STEVEN, D. H.; SAMUEL, C. A. Anatomy of the placental barrier in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.579-582, 1975.
- STEWART, F.; ALLEN, W. R. The binding of FSH, LH and PMSG to equine gonadal tissues. *J. Reprod. Fertil.*, v.27, p.431-440, 1979.
- STEWART, F.; ALLEN, W. R.; MOOR, R. M. Pregnant mare serum gonadotrophin: ratio of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone activities measured by radioreceptor assay. *J. Endocrinol.*, v.71, p.371-382, 1976.
- STEWART, F.; MAHER, J. K. Analysis of horse and donkey gonadotrophin genes using Southern blotting and DNA hybridization techniques. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.44, p.19-25, 1991.
- STOCCO, D. M. Clinical disorders associated with abnormal cholesterol transport: mutations in the steroidogenic acute regulatory protein. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v.191, p.19-25, 2002a.
- STOCCO, D. M. Intermitochondrial cholesterol transfer. *Biochim. Biophys. Acta*, v.1486, p.184-197, 2000b.
- STOUT, T. A. E.; ALLEN, W. R. Role prostaglandins drive intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction*, v.121, n.5, p.771-775, 2001.
- STOUT, T. A. E.; ALLEN, W. R. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction*, v.121, n.5, p.771-775, 2001a.
- STRYER, L. Membrane structure and dynamics. In: BIOCHEMISTRY. New York: W.H. Freeman and Company, 1995. p.263-290.
- STTEWART, F.; CHARLESTON, B.; CROSSETT, B. *et al.* A novel uterine protein that associates with the blastocyst capsule in equids. *J. Reprod. Fertil.*, v.105, n.1, p.65-70, 1995.
- SUGINO, H.; BOUSFIELD, G. R.; MOORE, W. R. *et al.* Structural studies on equine glycoprotein hormones. Amino acid sequences of equine chorionic gonadotropin  $\beta$ -subunit. *J. Biol. Chem.*, v.262, p.8603-8609, 1987.
- SUH, D. Y.; HUNT, T. K.; SPENCER, M. Insuline-like growth factor I reverses the impairment of wound healing induced by corticosteroids in rats. *Endocrinology*, v.131, n.5, p.2399-2403, 1992.
- SULLIVAN, J. J.; TURNER, P. C.; SELF, L. C. *et al.* Survey of reproductive efficiency in the quarter horse and thoroughbred. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.315-318, 1975.
- SULONG, A. Effects of ACTH on plasma concentrations of cortisol and progesterone and on embryonic survival in swine. *Diss. Abstr. Int.*, v.45, p.343, 1985.

- SWERCZEK, T. W. Early fetal death and infectious placental disease in the mare in ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 1980. *Proceedings...* [s.l.]: American Association of Equine Practitioners, 1980. p.173-179.
- TAYLOR, M. J.; SHORT, R. A. Development of the germ cells in the ovary of the mule and hinny. *J. Reprod. Fertil.*, v.32, n.3, p.441-445, 1973.
- TEKIN, N.; WÖCKENER, A.; KLUG, E. Konservierungsfähigkeit von pferdesamen bei einatz zweier verdüner und Konservierungstemperaturen. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* v.96, n.5, p. 258-265, 1989.
- TERQUI, M; PALMER, E. Oestrogen pattern during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.27, p.441-446, 1979.
- THEINGI, M. T.; WOLFE, M. W. An activator protein-1 complex mediates epidermal growth factor regulation of equine glycoprotein alpha subunit expression in trophoblast cells. *Biol. Reprod.*, v.67, n.3, p.972-980, 2002.
- THOMPSON, D. L.; HOFFMAN, R.; DEPEW, C. L. Prolactin administration to seasonally anoestrous mares: Reproductive, metabolic and hair-shedding responses. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.1092-1099, 1987.
- TISCHNER, M. Results of artificial insemination of horses in Poland in the post-war period. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.111-114, 1975.
- TISCHNER, M.; KOSINIAK, K. Techniques for collection and storage of stallion semen with minimal secondary contamination. *Acta Vet. Scand.*, suppl.88, p.83-90, 1992.
- TISCHNER, M.; KOSINIAK, K.; BIELANSKI, W. Analysis of the pattern of ejaculation in stallions. *J. Reprod. Fertil.*, v.41, n.2, p.329-335, 1974.
- TISCHNER, M.; TOMICA, E.; JEZIERSKI, J. Age and seasonal effects on sexual behaviour of stallions at rest. *Anim. Reprod. Sci.*, v.12, n.3, p.233-237, 1986.
- TRIMECHE, A.; RENARD, P.; TAINTURIER, D. A procedure for poitou jackass sperm cryopreservation. *Theriogenology*, v.50, n.5, p.793- 806, 1998.
- TROEDSSON, M. H. T.; LIU, I. K. M.; CRABO, B. G. Sperm transport and survival in the mare. *Theriogenology*, v.49, n.5, p.905-915, 1998.
- TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*, v.52, n.3, p.461-471, 1999.
- TRUM, B.F. The estrous cycle of the mare. *Cornell Vet.*, v.40, p.17-23, 1950.
- URWIN, V. E.; ALLEN, W. R. Pituitary and chorionic gonadotropic control of ovarian function during early pregnancy in equids. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.32, p.371-81, 1982.
- VAGNONI, K. E.; GINTHER, O. J.; LUNN, D. P. Metalloproteinase activity has a role in equine chorionic girdle cell invasion. *Biol. Reprod.*, v.53, n.4, p.800-805, 1995.
- VALERA, M.; BLESÁ, F.; DOS SANTOS, S. *et al.* Genetic study of gestation length in andalusian and arabian mares. *Anim. Reprod. Sci.*, v.95, p.75-96, 2006.
- VALLE, G. R. *Efeito da rufiação e manipulação do sistema genital e transporte de sêmen, em container "celle" modificado, na avaliação da técnica de inseminação artificial de equinos.* 1997. 349f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- VALLE, G. R.; SILVA FILHO, J. M.; OLIVEIRA, H. N. *et al.* Efeito da idade sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado a 14°C e transportado. *Rev. Bras. Zootec.*, v.28, p.1031-1036, 1999.
- VALLE, G. R.; SILVA FILHO, J. M.; PALHARES, M. S. Características cíclicas e ovulatórias de éguas mestiças em Minas Gerais, Brasil. *Arq. Ciên. Vet. Zool. UNIPAR*, v.8, n.2. p.155-163, 2005.
- VALLE, G. R.; SILVA FILHO, J. M.; PALHARES, M. S. *et al.* Efeito do bimestre dentro da estação de monta sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e transportado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, n.4, p. 12-14 2000.

- VAN NIEKERK, C. H. Pattern of the oestrous cycle of mares. I. The breeding season. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, v.38, p.295-298, 1967.
- VAN NIEKERK, C. H. The early diagnosis of pregnancy, the development of foetal membranes and nidation in the mare. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, v.36, p.483-488, 1965.
- VAN NIEKERK, C. H.; MORGENTHAL, J. C. Fetal loss and the effect of stress on plasma progesterone levels in pregnant Thoroughbred mares. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.32, p.453-457, 1982.
- VAN NIEKERK, C.; MORGENTHAL, J.; GERNEKE, W.. Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum of the mare. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.23, p.171-175, 1975.
- VAN NIEKERK, F. E.; VAN NIEKERK, C. H. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. Part 7. Embryonic development, early embryonic death, foetal losses and their relationship with serum progesterone. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, v.69, p.150-155, 1998.
- VAN RENSBURG, S. W. J.; VAN HEERDEN, J. S. Infertility in mares caused by ovarian disfunction. *J. Vet. Res.*, v.26, n.139, p.251-259, 1953.
- VANDERWALL, D. K. Early embryonic loss in the mare. *J. Equine Vet. Sci.*, v.28, p.691-702, 2008.
- VANDERWALL, D. K. Early embryonic loss in the mare reflect chromosomal and/or other inherent changes within mare. *J. Equine Vet. Sci.*, v.28, n.11, p.691-702, 2008.
- VANDERWALL, D. K.; NEWCOMBE, J. R. Early pregnancy loss. In: SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; MCKINNON, A. O. (Eds.). *Current therapy in equine reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. 2007. p.374-383.
- VANDERWALL, D.K.; SQUIRES, E. L.; BRINSKO, S.P. *et al.* Diagnosis and management of abnormal embryonic development characterized by formation of an embryonic vesicle without an embryo in mares. *J. Am. Med. Assoc.*, v.217, p.58-63, 2000.
- VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. Age-related subfertility in the mare. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 36., 1990, Lexington. *Proceedings ...*. Lexington: American Association of Equine Practitioners, 1991. p.85-89.
- VANDERWALL, D.K.; 2011. Earley embryonic loss. In: McKinnon, A.O., Squires, E.L.; Vaala, W.E; Varner, D.D. *Equine Reproduction*. 2nd ed., Wiley-Black, pp 2118-2122.
- VANROOSE, G.; KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-61, p.131-143, 2000.
- VARNER, D. D. Semen preservation in stallions: possibilities and limitations. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v.13, n.2, p.289-291, 1991
- VARNER, D. D.; BLANCHARD, T. L.; LOVE C. L. *et al.* Effects of semen fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology*, v.28, n.5, p.709-723, 1987.
- VARNER, D. D.; BLANCHARD, T. L.; MEYERS, J. A. Fertilizing capacity of equine spermatozoa stored for 24 hours at 5°C or 20°C. *Theriogenology*, v.32, n.4, p.515-525, 1989.
- VIANNA, B. C. *Inseminação artificial em éguas com sêmen congelado, "in natura" e diluído*. 2000. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- VIDAMENT, M.; DUPERE, A. M.; JULIENNE, P. *et al.* Equine frozen semen: freezability and field results. *Theriogenology*, v.48, n.6, p.907-917, 1997.
- VIDAMENT, M.; ECOT, P.; NOUE, P. *et al.* Centrifugation and addition of glycerol at 22°C instead of 4°C improve post-thaw motility and fertility of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.54, n.6, p.907-919, 2000.
- VIDAMENT, M.; VICENT, P.; YVON, J. M. *et al.* Glycerol in semen extender is a limiting factor in the fertility in asinine and equine species. *Anim. Reprod. Sci.*, v.89, p.302-305, 2005.
- VIDAMENT, M.; YVON, J. M.; COUTY, I. *et al.* Advances in cryopreservation of stallion

semen in modified INRA 82. *Anim. Reprod. Sci.*, v.68, n.3-4, p.201-218, 2001.

VIEIRA, R. C.; ARRUDA, R. P.; MANZANO, A. Inseminação intracornual de equídeos com sêmen congelado em palhetas de 0,5 ml. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22., 1985. *Anais...* Camboriú: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1985. p.298.

VILLAHOZ, M. D. Some observation on early embryonic death in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.32, p.431-439, 1985.

VIUFF, D.; RICKORDS, L.; OFFENBERG, H. *et al.* A high proportion of bovine blastocysts produced in vitro are mixoploid. *Biol. Reprod.*, v.60, n.6, p.1273-1278, 1999.

VIVO, R.; CASTEJAN-CALDERON, F. J.; SANTISTEBAN, R. *et al.* Gestation length in Arab and Andalusian mares. *Zootechny*, v.33, p.263-267, 1983.

VOGE, J. L.; AAD, P. Y.; SANTIAGO, C. A. T. *et al.* Effect of insulin-like growth factors (IGFs), FSH, and leptin on IGF-binding-protein mRNA expression in bovine granulosa and theca cells: quantitative detection by real-time PCR. *Peptides*, v.25, n.12, p.2195-2203. 2004.

VOGELSANG, S. G.; VOGELSANG, M. M. Influence of donor parity and age on the success of commercial equine embryo transfer. *Equine Vet. J.*, v.21, p.71-71, 1989.

VOSS, G. L.; PICKETT, B. W. Reproductive management of the broodmare. *Colorado State Univ. Bull.*, General series, 961, 1976.

VOSS, J. L.; SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W. *et al.* Effect of number and frequency of inseminations on fertility of mares. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.32, p.53-57, 1982.

VOSS, J. L.; WALLACE, R. A.; SQUIRES, E. L. *et al.* Effects of synchronization and frequency of insemination on fertility. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.27, p.257-261, 1979.

VOSS, J. L.; PICKETT, B. W.; SQUIRES, E. L. Stallion spermatozoa morphology and motility and their relationship to fertility. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.178, p.287-289, 1981.

WAELECHLI, R. O. Endometrial biopsy in mares under non uniform breeding management conditions: prognostic value and relationship with age. *Can. Vet. J.*, v.31, p.379-384, 1990.

- WALTON, A.; HAMMOND, J. The maternal effects on growth and conformation in Shire horse–Shetland pony crosses. *Proc. R. Soc. B*, v.125, p.311–335, 1938
- WALTON, A. Flow orientation as a possible explanation of “wave motion” an “rheotaxis” of spermatozoa. *J. Exp. Biol.*, v.29, p.520-531, 1952.
- WALTON, A; FAIR, K. K. Preliminary investigation on the fecundation of premium stallions. *J. Agric. Sci.*, v.18, p.772-777, 1928.
- WATSON, E. D.; THOMSON, S. R. M.; HOWIE, A. F. Detection of steroidogenic acute regulatory protein in equine ovaries. *J. Reprod. Fertil.*, v.119, n.1, p.187-192, 2000.
- WATSON, E.D.; BAE, S. E.; THOMASSEN, R. *et al.* Insuline-like growth factors-I and –II and insuline like growth factor-binding protein-2 in dominant equine follicles during the spring transition and the ovulatory season. *Reproduction*, v.128, n.3, p.321-329. 2004
- WATSON, E. D.; SERTICH, P. L. Prostaglandin production by horse embryos and the effect of co-culture of embryos with endometrium from pregnant mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.87, n.1, p.331-336, 1989.
- WATSON, P. F., MORRIS, G. J. Cold shock injury in animal cells. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, v.41, p.311-340, 1987.
- WEBER, J. A.; WOODS, G. L.; LICHTENWALNER, A. B. Relaxatory effect of prostaglandin E2 on circular smooth muscle isolated from the equine oviductal isthmus. *Biol. Reprod. Mono.*, v.1, p.125–130, 1995.
- WESSON, J. A.; GINTHER, O. J. Plasma gonadotropin levels in intact and ovariectomized prepubertal ponies. *Biol. Reprod.*, v.20, n.5, p.1099-1104, 1979.
- WHITMORE, H. L.; WENTWORTH, B. C.; GINTHER, O. J. Circulating concentrations of luteinizing hormone during estrous cycle of mares as determined by radioimmunoassay. *Am. J. Vet. Res.*, v.34, p.631-636, 1973.
- WILSHER, S.; ALLEN, W. R. The influences of maternal size, age and parity on placental and fetal development in the horse. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.833-835, 2002.
- WINTER, G.H.Z. *Características reprodutivas sazonais da égua Crioula em uma propriedade à latitude 28°38’S no Rio Grande do Sul*. 2007. 46f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, RS.
- WOODING, F B. P.; MORGAN, G.; FOWDEN, A. L.; ALLEN, W. R. A Structural and immunological study of chorionic gonadotrophin production by equine trophoblast girdle and cup cells. *Placenta*, v.22, p.749-767, 2001.
- WOODING, F. B. P.; STAPLES, L. D.; PEACOCK, M. A. Structure of trophoblast papillae on the sheep conceptus at implantation. *J. Anat.*, v.134, p.507-516, 1982.
- WOODS, G. L.; BAKER, C. B.; BALDWIN J. L. *et al.* Early pregnancy loss in brood mares. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.35, p.455-459, 1987.
- WOODS, G. L.; BAKER, C. B.; BILISKI, J.; HILLMAN, R. B. *et al.* A field study on early pregnancy loss in Standardbred and Thoroughbred mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.5, n.5, p.264-267, 1985.
- WOODS, J.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. *Equine Vet. J.*, v.22, n.6, p.410-415, 1990.
- WRATHALL, J. H.; KNIGHT, P. G. Effects of inhibin-related peptides and oestradiol on androstenedione and progesterone secretion by bovine theca cells in vitro. *J. Endocrinol.*, v.145, p.491-500, 1995.
- XAVIER, I. L. G. S. *Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído, no corpo ou ápice do corno uterino, utilizando diferentes números de espermatozoides por dose inseminante*. 2006. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- YOUNGLAI, R.; JARREL, J. F. Release of 3H2O from 1 beta,2 beta[3H]androstenedione by equine granulosa cells. *Acta Endocrinol.*, v.104, n.2, p.227-232, 1983.
- ZENT, W. W.; WILLIAMS, N. M.; DONAHUE, J. M. Placentitis in Central Kentucky broodmares. *Pferdeheilkunde*, v.15, p.630-632, 1999.



ZIVOTKOV, H. I. The efficacy of mating and insemination of mares during or after ovulation. *Sovetskoe Zootech*, n.1, p.108-109, 1940 apud *Anim. Breed. Abstr.*, v.9, n.4, p.303, 1941.

ZWOLINSKI, J. Studies on the correlation between time of service of mares and the sex of live-born foals. *Prace Kom. Nauk roln. Kom. Nauk lesn.*, v.7, n.3, p.113-127, 1960. *Anim.*

*Breed. Abstr.*, v.31, n.2, p.169, 1963. (Abstr. 918).

## 9. ANEXOS

### 9.1. Análises estatísticas referentes ao Experimento I - Desenvolvimento embrionário de éguas com gestações interespécies (jumento x égua).

#### 9.1.1. Análises estatísticas referentes à tabela 19

Análise 1. Comparação dos tamanhos das vesículas embrionárias, em largura e altura, dos 10 aos 37 dias de gestação

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	2	4497,5186	2248,7593	180,426	0,0001
<b>Erro</b>	164	2044,0264	12,4636		
<b>Total</b>	166	6541,5449			

**Coefficiente de variação:** 17,35570

Análise 2. Médias dos quadrados mínimos da largura das vesículas embrionárias

<b>Tratamento</b>	<b>Largura média</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>10</b>	5,9600	4,5408	0,1915
<b>11</b>	13,7100	4,5408	0,0030
<b>12</b>	10,9900	1,1352	0,0001
<b>13</b>	13,8833	1,5136	0,0001
<b>14</b>	20,4195	1,0417	0,0001
<b>15</b>	20,8050	1,8538	0,0001
<b>16</b>	27,6491	1,3691	0,0001
<b>17</b>	27,2175	2,2704	0,0001
<b>18</b>	31,4817	1,8538	0,0001
<b>19</b>	28,0786	1,7163	0,0001
<b>20</b>	28,6080	1,4359	0,0001
<b>21</b>	26,4500	3,2108	0,0001
<b>22</b>	29,5322	1,5136	0,0001
<b>23</b>	28,0575	2,2704	0,0001
<b>24</b>	31,9900	2,6216	0,0001
<b>25</b>	31,8556	1,1352	0,0001
<b>26</b>	33,4390	1,4359	0,0001
<b>27</b>	33,2642	1,3108	0,0001
<b>28</b>	37,4150	2,2704	0,0001
<b>29</b>	35,7700	2,6216	0,0001
<b>30</b>	38,5813	1,6054	0,0001
<b>31</b>	33,9600	3,2108	0,0001
<b>32</b>	45,3000	4,5408	0,0001
<b>33</b>	44,8000	4,5408	0,0001
<b>35</b>	35,4000	4,5408	0,0001
<b>37</b>	41,7000	4,5408	0,0001

Análise 3. Médias dos quadrados mínimos da altura das vesículas embrionárias

Tratamento	Altura média	Erro Padrão	p
10	5,7700	5,1803	0,2672
11	13,7100	5,1803	0,0091
12	10,3243	1,2951	0,0001
13	12,3600	1,7668	0,0001
14	17,9437	1,1884	0,0001
15	17,9850	2,1149	0,0001
16	27,4600	1,5619	0,0001
17	25,2425	2,5902	0,0001
18	29,5300	2,1149	0,0001
19	26,8186	1,9580	0,0001
20	30,2110	1,6382	0,0001
21	29,4250	3,6630	0,0001
22	31,2767	1,7268	0,0001
23	26,5475	2,5902	0,0001
24	31,6967	2,9909	0,0001
25	29,6813	1,2951	0,0001
26	31,4060	1,6382	0,0001
27	31,5442	1,4954	0,0001
28	35,2825	2,5902	0,0001
29	33,8067	2,9909	0,0001
30	32,7750	1,8315	0,0001
31	34,4950	3,6630	0,0001
32	41,2000	5,1803	0,0001
33	37,5000	5,1803	0,0001
35	41,8000	5,1803	0,0001
37	63,1000	5,1803	0,0001

**9.2. Análises estatísticas referentes aos experimentos IIa e IIb - Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen a Fresco ou Resfriado, Diluído nos Diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Glicina-Gema de Ovo (GGO)**

9.2.1. Análises estatísticas referentes à tabela 21.

Análise 1. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

Frequência	Negativo	Positivo	Total
LPDG Fresco	11	20	31
GGO Fresco	14	22	36
LPDG Resfriado	34	35	69
GGO Resfriado	33	39	72
<b>Total</b>	92	116	208

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,165	3	0,539

Análise 2. Comparação das taxas de concepção/ciclo de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

Frequência	Negativo	Positivo	Total
LPDG Fresco	12	21	33
GGO Fresco	20	24	44
LPDG Resfriado	44	49	93
GGO Resfriado	54	48	102
<b>Total</b>	<b>130</b>	<b>142</b>	<b>272</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,916	3	0,405

Análise 3. Comparação da taxa de concepção total de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

Frequência	Negativo	Positivo	Total
LPDG Fresco	10	21	31
GGO Fresco	12	24	36
LPDG Resfriado	20	49	69
GGO Resfriado	24	48	72
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>142</b>	<b>208</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,372	3	0,946

Análise 4. Comparação da duração da gestação de éguas inseminadas com semen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

**Análise de Variância**

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	3	662,9616	220,9872	2,04	0,1169
Erro	67	7264,9540	108,4321		
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>7927,9154</b>			

**Coefficiente de variação: 3,03**

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste			
	T1	T2	T3	T4
SNK (p>0,05)	a	a	a	a

Análise 5. Comparação do tempo de gestação ao ultimo controle gestacional em éguas inseminadas com semen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

**Análise de Variância**

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	3	3597,2327	1199,0775	2,62	0,0635
Erro	41	18758,6783	467,5287		
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>22355,9111</b>			

**Coefficiente de variação: 66,75**

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste			
	T1	T2	T3	T4
SNK (p>0,05)	b	b	a	ab

Análise 6. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	13	8	21
<b>GGO Fresco</b>	10	14	24
<b>LPDG Resfriado</b>	7	42	49
<b>GGO Resfriado</b>	15	33	48
<b>Total</b>	45	97	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	16,821	3	0,001

Análise 7. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Resfriado</b>	39	7	46
<b>GGO Resfriado</b>	32	15	47
<b>Total</b>	71	22	93

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,589	1	0,058

Análise 8. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	8	13	21
<b>LPDG Resfriado</b>	39	7	46
<b>Total</b>	47	20	67

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	15,008	1	0,001

Análise 9. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	8	13	21
<b>GGO Fresco</b>	12	10	22
<b>Total</b>	20	23	43

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,169	1	0,280

Análise 10. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor LPDG, ou resfriado, diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	8	13	21
<b>GGO Resfriado</b>	32	15	47
<b>Total</b>	40	28	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	5,390	1	0,020

Análise 11. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
GGO Fresco	12	10	22
GGO Resfriado	32	15	47
<b>Total</b>	44	25	69

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	1,189	1	0,276

Análise 12. Comparação da taxa de perda de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
GGO Fresco	12	10	22
LPDG Resfriado	39	7	46
<b>Total</b>	51	17	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	7,257	1	0,007

Análise 13. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
LPDG Fresco	8	13	21
GGO Fresco	12	10	22
LPDG Resfriado	39	7	46
GGO Resfriado	32	15	47
<b>Total</b>	91	45	136

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	16,061	3	0,001

Análise 14. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
LPDG Fresco	8	13	21
LPDG Resfriado	39	7	46
<b>Total</b>	47	20	67

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	15,008	1	0,001

Análise 15. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído no diluidor LPDG, ou resfriado, diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
LPDG Fresco	8	13	21
GGO Resfriado	32	15	47
<b>Total</b>	40	28	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
Qui-Quadrado	5,390	1	0,020

Análise 16. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	8	13	21
<b>GGO Fresco</b>	12	10	22
<b>Total</b>	20	23	43

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,169	1	0,280

Análise 17. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>GGO Fresco</b>	12	10	22
<b>GGO Resfriado</b>	32	15	47
<b>Total</b>	44	25	69

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,189	1	0,276

Análise 18. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Resfriado</b>	39	7	46
<b>GGO Resfriado</b>	32	15	47
<b>Total</b>	71	22	93

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,589	1	0,058

Análise 19. Comparação da taxa de perda ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Total</b>
<b>GGO Fresco</b>	12	10	22
<b>LPDG Resfriado</b>	39	7	46
<b>Total</b>	51	17	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	7,257	1	0,007

Análise 20. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	13	8	21
<b>GGO Fresco</b>	12	12	24
<b>LPDG Resfriado</b>	10	39	49
<b>GGO Resfriado</b>	16	32	48
<b>Total</b>	51	91	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	13,490	3	0,004

Análise 21. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Resfriado</b>	10	39	49
<b>GGO Resfriado</b>	16	32	48
<b>Total</b>	26	71	97

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	2,065	1	0,151

Análise 22. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com semen a fresco diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
<b>GGO Fresco</b>	12	12	24
<b>LPDG Resfriado</b>	10	39	49
<b>Total</b>	22	51	73

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	6,700	1	0,010

Análise 23. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com semen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	13	8	21
<b>LPDG Resfriado</b>	10	39	49
<b>Total</b>	23	47	70

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	11,474	1	0,001

Análise 24. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
<b>GGO Fresco</b>	12	12	24
<b>GGO Resfriado</b>	16	32	48
<b>Total</b>	28	44	72

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,870	1	0,171

Análise 25. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor LPDG ou resfriado, diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	13	8	21
<b>GGO Resfriado</b>	16	32	48
<b>Total</b>	29	40	69

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	4,895	1	0,027



Análise 26. Comparação da taxa de parto de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Não Paridas</b>	<b>Paridas</b>	<b>Total</b>
LPDG Fresco	13	8	21
GGO Fresco	12	12	24
<b>Total</b>	25	20	45

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	0,643	1	0,423

Análise 27. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
LPDG Fresco	13	8	21
GGO Fresco	10	12	22
LPDG Resfriado	7	39	46
GGO Resfriado	15	32	47
<b>Total</b>	45	91	136

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	16,061	3	0,001

Análise 28. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
LPDG Fresco	13	8	21
GGO Fresco	10	12	22
<b>Total</b>	23	20	43

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	1,169	1	0,280

Análise 29. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
LPDG Resfriado	7	39	46
GGO Resfriado	15	32	47
<b>Total</b>	22	71	93

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	3,589	1	0,058

Análise 30. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor GGO, ou resfriado, diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
GGO Fresco	10	12	22
LPDG Resfriado	7	39	46
<b>Total</b>	17	51	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
Qui-Quadrado	7,257	1	0,007

Análise 31. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor LPDG

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	13	8	21
<b>LPDG Resfriado</b>	7	39	46
<b>Total</b>	20	47	67

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	15,008	1	0,001

Análise 32. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
<b>GGO Fresco</b>	10	12	22
<b>GGO Resfriado</b>	15	32	47
<b>Total</b>	25	44	69

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,189	1	0,276

Análise 33. Comparação da taxa de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído no diluidor LPDG, ou resfriado diluído no diluidor GGO

<b>Frequência</b>	<b>Taxa de Perda</b>	<b>Taxa de Parto</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	13	8	21
<b>GGO Resfriado</b>	15	32	47
<b>Total</b>	28	40	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	5,390	1	0,020

Análise 34. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado, diluído nos diluidores LPDG ou GGO

<b>Frequência</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>	<b>Total</b>
<b>LPDG Fresco</b>	4	4	8
<b>GGO Fresco</b>	5	7	12
<b>LPDG Resfriado</b>	23	15	38
<b>GGO Resfriado</b>	18	14	32
<b>Total</b>	50	40	90

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,424	3	0,700

9.2.2. Análises estatísticas referentes à tabela 22

Análise 35. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	2	15	25	52	116
<b>Não Gestantes</b>	21	2	19	26	14	92
<b>Total</b>	53	4	34	51	66	208

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	21,413	4	0,001

Análise 36. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 2

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	2	53
<b>Não Gestantes</b>	31	2	4
<b>Total</b>	53	4	57

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,110	1	0,740

Análise 37. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	15	37
<b>Não Gestantes</b>	31	19	50
<b>Total</b>	53	34	87

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,058	1	0,810

Análise 38. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4.

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	25	47
<b>Não Gestantes</b>	31	26	57
<b>Total</b>	53	57	104

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,592	1	0,442

Análise 39. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
Gestantes	22	52	74
Não Gestantes	31	14	45
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>66</b>	<b>119</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
Qui-Quadrado	17,372	1	0,001

Análise 40. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 3.

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
Gestantes	2	15	17
Não Gestantes	2	19	21
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>34</b>	<b>38</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
Qui-Quadrado	0,050	1	0,823

Análise 41. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
Gestantes	2	25	27
Não Gestantes	2	26	28
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>51</b>	<b>55</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
Qui-Quadrado	0,001	1	0,970

Análise 42. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 5.

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
Gestantes	2	52	54
Não Gestantes	2	14	16
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>66</b>	<b>70</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
Qui-Quadrado	1,773	1	0,183

Análise 43. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
Gestantes	15	25	40
Não Gestantes	19	26	45
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>51</b>	<b>85</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
Qui-Quadrado	0,197	1	0,657

Análise 44. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	15	52	67
<b>Não Gestantes</b>	19	14	33
<b>Total</b>	34	66	100
<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	12,200	1	0,001

Análise 45. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	25	52	77
<b>Não Gestantes</b>	26	14	40
<b>Total</b>	51	66	117
<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	11,331	1	0,001

Análise 46. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	2	19	34	55	142
<b>Não Gestantes</b>	45	2	27	36	20	130
<b>Total</b>	77	4	46	70	75	272
<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>			
<b>Qui-Quadrado</b>	19,485	4	0,001			

Análise 47. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 2

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	2	34
<b>Não Gestantes</b>	45	2	47
<b>Total</b>	77	4	81
<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,111	1	0,739

Análise 48. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	19	51
<b>Não Gestantes</b>	45	27	72
<b>Total</b>	77	46	123
<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,001	1	0,978

Análise 49. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
Gestantes	32	34	66
Não Gestantes	45	36	81
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>70</b>	<b>147</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,729	1	0,393

Análise 50. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
Gestantes	32	55	87
Não Gestantes	45	20	65
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>75</b>	<b>152</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	15,672	1	0,001

Análise 51. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 3

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
Gestantes	2	19	21
Não Gestantes	2	27	29
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>46</b>	<b>50</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,114	1	0,735

Análise 52. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
Gestantes	2	34	36
Não Gestantes	2	36	38
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>70</b>	<b>74</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,003	1	0,956

Análise 53. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 2 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
Gestantes	2	55	57
Não Gestantes	2	20	22
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>75</b>	<b>79</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,029	1	0,310

Análise 54. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	19	34	53
<b>Não Gestantes</b>	27	36	63
<b>Total</b>	46	70	116

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,591	1	0,442

Análise 55. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	19	55	74
<b>Não Gestantes</b>	27	20	47
<b>Total</b>	46	75	121

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	12,313	1	0,001

Análise 56. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	34	55	89
<b>Não Gestantes</b>	36	20	56
<b>Total</b>	70	75	145

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	9,365	1	0,002

Análise 57. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	2	19	34	55	142
<b>Não Gestantes</b>	19	1	15	19	12	66
<b>Total</b>	51	3	34	53	67	208

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	9,453	4	0,051

Análise 58. Comparação da duração da gestação por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	4	566,5385	141,6346	1,27	0,2907
<b>Erro</b>	66	7361,3769	111,5360		
<b>Total</b>	70	7927,9154			

**Coefficiente de variação: 3,07**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo teste</b>				
	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>
<b>SNK (P&lt;0,05)</b>	b	a	b	b	b

Análise 59. Comparação das taxas de perda por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	10	1	7	9	18	45
<b>Parto</b>	22	1	12	25	37	97
<b>Total</b>	32	2	19	34	55	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,001	4	0,910

Análise 60. Comparação das taxas de perda ajustada por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	10	1	7	9	18	45
<b>Parto</b>	20	1	11	24	35	91
<b>Total</b>	30	2	18	33	53	136

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,055	4	0,901

Análise 61. Comparação das taxas de parto de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Não paridas</b>	12	1	8	10	20	51
<b>Paridas</b>	20	1	11	24	35	91
<b>Total</b>	32	2	19	34	55	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,153	4	0,886

Análise 62. Comparação das taxas de parto ajustadas de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	10	1	7	9	18	45
<b>Parto</b>	20	1	11	24	35	91
<b>Total</b>	30	2	18	33	53	136

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,055	4	0,901



Análise 63. Comparação do sexo dos produtos de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor

<b>Frequência</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>	<b>Total</b>
<b>Jumento 1</b>	13	7	20
<b>Jumento 2</b>	1	0	1
<b>Jumento 3</b>	6	5	11
<b>Jumento 4</b>	15	9	24
<b>Jumento 5</b>	15	19	34
<b>Total</b>	50	40	90

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,797	4	0,434

9.2.3. Análises estatísticas referentes à tabela 23

Análise 64. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	15	25	52	114
<b>Não Gestantes</b>	31	19	26	14	90
<b>Total</b>	53	34	51	66	204

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	21,370	3	0,001

Análise 65. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	15	37
<b>Não Gestantes</b>	31	19	50
<b>Total</b>	53	34	87

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,058	1	0,810

Análise 66. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	25	47
<b>Não Gestantes</b>	31	26	57
<b>Total</b>	53	51	104

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,592	1	0,442

Análise 67. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	22	52	74
<b>Não Gestantes</b>	31	14	45
<b>Total</b>	53	66	119

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	17,372	1	0,001

Análise 68. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	15	25	40
<b>Não Gestantes</b>	19	26	45
<b>Total</b>	34	51	85

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,197	1	0,657

Análise 69. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	15	52	67
<b>Não Gestantes</b>	19	14	33
<b>Total</b>	34	66	100

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	12,200	1	0,001

Análise 70. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	25	52	77
<b>Não Gestantes</b>	26	14	40
<b>Total</b>	51	66	117

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	11,331	1	0,001

Análise 71. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	19	34	55	140
<b>Não gestantes</b>	45	27	36	20	128
<b>Total</b>	77	46	70	75	268

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	19,478	3	0,001

Análise 72. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
Gestantes	32	19	51
Não Gestantes	45	27	72
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>46</b>	<b>123</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,001	1	0,978

Análise 73. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
Gestantes	32	34	66
Não Gestantes	45	36	81
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>70</b>	<b>147</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,729	1	0,393

Análise 74. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
Gestantes	32	55	87
Não Gestantes	45	20	65
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>75</b>	<b>152</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	15,672	1	0,001

Análise 75. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
Gestantes	19	34	53
Não Gestantes	27	36	63
<b>Total</b>	<b>46</b>	<b>70</b>	<b>116</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,591	1	0,442

Análise 76. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
Gestantes	19	55	74
Não Gestantes	27	20	47
<b>Total</b>	<b>46</b>	<b>75</b>	<b>121</b>

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	12,313	1	0,001

Análise 77. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	34	55	89
<b>Não Gestantes</b>	36	20	56
<b>Total</b>	70	75	145

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	9,365	1	0,002

Análise 78. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	19	34	55	140
<b>Não Gestantes</b>	19	15	19	12	65
<b>Total</b>	51	34	53	67	205

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	9,453	3	0,024

Análise 79. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 3

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	19	51
<b>Não Gestantes</b>	19	15	34
<b>Total</b>	51	34	85

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,400	1	0,527

Análise 80. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 4

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	34	66
<b>Não Gestantes</b>	19	19	38
<b>Total</b>	51	53	104

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,022	1	0,882

Análise 81. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 1 e 5

<b>Frequência</b>	<b>Jumento 1</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	32	55	87
<b>Não Gestantes</b>	19	12	31
<b>Total</b>	51	67	118

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	5,594	1	0,018

Análise 82. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 4

Frequência	Jumento 3	Jumento 4	Total
Gestantes	19	34	53
Não Gestantes	15	19	34
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>53</b>	<b>87</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,595	1	0,441

Análise 83. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 3 e 5

Frequência	Jumento 3	Jumento 5	Total
Gestantes	19	55	74
Não Gestantes	15	12	27
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>67</b>	<b>101</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	7,909	1	0,005

Análise 84. Comparação das taxas de concepção por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre os jumentos 4 e 5

Frequência	Jumento 4	Jumento 5	Total
Gestantes	34	55	89
Não Gestantes	19	12	31
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>67</b>	<b>120</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	4,970	1	0,026

Análise 85. Comparação da duração da gestação por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, excluindo-se o jumento 2

Análise de Variância					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	3	107,7659	35,9219	0,32	0,8094
Erro	66	7361,3769	111,5360		
<b>Total</b>	<b>69</b>	<b>7469,1428</b>			
<b>Coefficiente de variação: 3,07</b>					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste			
	T1	T2	T3	T4
SNK (p>0,05)	a	a	a	a

Análise 86. Comparação das taxas de perda por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2

Frequência	Jumento 1	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5	Total
Perda	10	7	9	18	44
Parto	22	12	25	37	96
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>19</b>	<b>34</b>	<b>55</b>	<b>140</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,690	3	0,876

Análise 87. Comparação das taxas de perda ajustada por jumento, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2

Frequência	Jumento 1	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5	Total
Perda	10	7	9	18	44
Parto	20	11	24	35	90
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>18</b>	<b>33</b>	<b>53</b>	<b>134</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,796	3	0,850

Análise 88. Comparação do sexo dos produtos de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, independentemente do diluidor, excluindo-se o jumento 2

Frequência	Fêmea	Macho	Total
Jumento 1	13	7	20
Jumento 3	6	5	11
Jumento 4	15	9	24
Jumento 5	15	19	34
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>40</b>	<b>89</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,982	3	0,394

#### 9.2.4. Análises estatísticas referentes à tabela 24

Análise 89. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva

Frequência	1*	2	3	4	Total
Gestantes	8	40	36	32	116
Não Gestantes	5	43	13	31	92
<b>Total</b>	<b>13</b>	<b>83</b>	<b>49</b>	<b>63</b>	<b>208</b>

\*1=potra; 2=Égua solteira; 3=Égua no cio do potro; 4=Égua lactante.

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	8,963	3	0,030

Análise 90. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 1 e 2

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	8	40	48
<b>Não Gestantes</b>	5	43	48
<b>Total</b>	13	83	96

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,801	1	0,371

Análise 91. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 1 e 3

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	8	36	44
<b>Não Gestantes</b>	5	13	18
<b>Total</b>	13	49	62

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,710	1	0,400

Análise 92. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 1 e 4

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	8	32	40
<b>Não Gestantes</b>	5	31	36
<b>Total</b>	13	63	76

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,499	1	0,480

Análise 93. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 2 e 3

<b>Frequência</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	40	36	76
<b>Não Gestantes</b>	43	13	56
<b>Total</b>	83	49	132

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	8,059	1	0,005

Análise 94. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 2 e 4

<b>Frequência</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	40	32	72
<b>Não Gestantes</b>	43	31	74
<b>Total</b>	83	63	146

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,097	1	0,756

Análise 95. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, entre as categorias reprodutivas 3 e 4

<b>Frequência</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	36	32	68
<b>Não Gestantes</b>	13	31	44
<b>Total</b>	49	63	112

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	5,942	1	0,015

Análise 96. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	10	55	45	32	142
<b>Não Gestantes</b>	6	62	31	31	130
<b>Total</b>	16	117	76	63	272

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,491	3	0,322

Análise 97. Comparação das taxas de concepção por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	10	55	46	31	142
<b>Não Gestantes</b>	3	28	18	17	66
<b>Total</b>	13	83	64	48	208

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,288	3	0,732

Análise 98. Comparação da duração da gestação por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído ou diluído e resfriado

**Análise de Variância**

<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	932,4426	310,8142	2,98	0,0377
<b>Erro</b>	67	6995,4728	104,4100		
<b>Total</b>	70	7927,9154			

**Coefficiente de variação: 2,97**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo teste</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	a	a	a	a



Análise 99. Comparação do tempo de gestação ao ultimo controle por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com semen asinino diluído ou diluído e resfriado

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	3953,9145	1317,9715	2,94	0,0445
<b>Erro</b>	41	18401,9965	448,8291		
<b>Total</b>	44	22355,9111			

**Coefficiente de variação:** 66,11

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo teste</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	b	a	ab	ab

Análise 100. Comparação das taxas de perda por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	3	13	20	9	45
<b>Parto</b>	7	42	26	22	97
<b>Total</b>	10	55	46	31	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	4,715	3	0,194

Análise 101. Comparação das taxas de perda ajustada por categoria reprodutiva, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	3	13	20	9	45
<b>Parto</b>	6	40	23	22	91
<b>Total</b>	9	53	43	31	136]

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	5,484	3	0,140

Análise 102. Comparação das taxas de parto de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Não Paridas</b>	4	15	23	9	51
<b>Paridas</b>	6	40	23	22	91
<b>Total</b>	10	55	46	31	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	6,460	3	0,091

Análise 103. Comparação das taxas de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	3	13	20	9	45
<b>Parto</b>	6	40	23	22	91
<b>Total</b>	9	53	43	31	136

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	5,484	3	0,140

Análise 104. Comparação do sexo dos produtos de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a categoria reprodutiva

<b>Frequência</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>	<b>Total</b>
<b>1</b>	3	3	6
<b>2</b>	22	17	39
<b>3</b>	16	7	23
<b>4</b>	9	13	22
<b>Total</b>	50	40	90

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,826	3	0,281

9.2.5. Análises estatísticas referentes à tabela 25

Análise 105. Comparação das taxas de concepção ao primeiro ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade

<b>Frequência</b>	<b>1*</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	17	50	24	22	113
<b>Não Gestantes</b>	10	45	18	16	89
<b>Total</b>	27	95	42	38	202

\*1=2,5 – 6,0 anos; 2=6,5 – 10 anos; 3=10,5 – 14 anos; 4=14,5 – 19 anos.

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	1,046	3	0,790

Análise 106. Comparação das taxas de concepção/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	20	64	28	26	138
<b>Não Gestantes</b>	12	65	22	27	126
<b>Total</b>	32	129	50	53	264

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	2,206	3	0,531

Análise 107. Comparação das taxas de concepção por idade, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Gestantes</b>	20	64	32	26	142
<b>Não Gestantes</b>	7	31	16	12	66
<b>Total</b>	27	95	48	38	208

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,513	3	0,916

Análise 108. Comparação da duração da gestação por idade, de éguas inseminadas com semen asinino diluído ou diluído e resfriado

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	932,4426	310,8142	2,98	0,0377
<b>Erro</b>	67	6995,4728	104,4100		
<b>Total</b>	70	7927,9154			

**Coefficiente de variação: 2,97**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo teste</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	a	a	a	a

Análise 109. Comparação das taxas de perda por idade, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	5	17	11	12	45
<b>Parto</b>	15	47	21	14	97
<b>Total</b>	20	64	32	26	142

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,810	3	0,283

Análise 110. Comparação das taxas de perda ajustada por idade, de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado

<b>Frequência</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
<b>Perda</b>	5	17	11	12	45
<b>Parto</b>	14	44	21	12	91
<b>Total</b>	19	61	32	24	136

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	4,268	3	0,284

Análise 111. Comparação do tempo de gestação ao ultimo controle, por idade, de éguas inseminadas com semen asinino diluído ou diluído e resfriado

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	1297,7145	432,5715	0,84	0,4787
<b>Erro</b>	41	21058,1965	513,6145		
<b>Total</b>	44	22355,9111			

**Coefficiente de variação: 70,72**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo teste</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	a	a	a	a

Análise 112. Comparação das taxas de parto de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade

Frequência	1	2	3	4	Total
Não Paridas	6	20	11	14	51
Paridas	14	44	21	12	91
<b>Total</b>	20	64	32	26	142

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,574	3	0,206

Análise 113. Comparação das taxas de parto ajustada de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com a idade

Frequência	1	2	3	4	Total
Perda	5	17	11	12	45
Parto	14	44	21	12	91
<b>Total</b>	19	61	32	24	136

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,268	3	0,234

#### 9.2.6. Análises estatísticas referentes à tabela 26

Análise 114. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da ovulação.

Frequência	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Total
Gestantes	30	41	27	38	6	142
Não Gestantes	40	33	25	20	12	130
<b>Total</b>	70	74	52	58	18	272

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	9,446	4	0,051

Análise 115. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da ovulação, agrupando-se os meses de fevereiro e março

Frequência	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro/Março	Total
Gestantes	30	41	27	44	142
Não Gestantes	40	33	25	32	130
<b>Total</b>	70	74	52	76	272

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	3,743	3	0,291

Análise 116. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura

Frequência	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Total
Parto	24	31	16	20	91
Perda	6	7	10	22	45
<b>Total</b>	30	38	26	42	136

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	13,413	3	0,004

Análise 117. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de novembro e fevereiro

<b>Frequência</b>	<b>Novembro</b>	<b>Fevereiro</b>	<b>Total</b>
<b>Parto</b>	24	20	44
<b>Perda</b>	6	22	28
<b>Total</b>	30	42	72

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	7,721	1	0,005

Análise 118. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de novembro e janeiro

<b>Frequência</b>	<b>Novembro</b>	<b>Janeiro</b>	<b>Total</b>
<b>Parto</b>	24	16	40
<b>Perda</b>	6	10	16
<b>Total</b>	30	26	56

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	2,326	1	0,127

Análise 119. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de novembro e dezembro

<b>Frequência</b>	<b>Novembro</b>	<b>Dezembro</b>	<b>Total</b>
<b>Parto</b>	24	31	55
<b>Perda</b>	6	7	13
<b>Total</b>	30	38	68

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	0,027	1	0,869

Análise 120. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de dezembro e fevereiro

<b>Frequência</b>	<b>Dezembro</b>	<b>Fevereiro</b>	<b>Total</b>
<b>Parto</b>	31	20	51
<b>Perda</b>	7	22	29
<b>Total</b>	38	42	80

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	9,956	1	0,002

Análise 121. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de dezembro e janeiro

<b>Frequência</b>	<b>Dezembro</b>	<b>Janeiro</b>	<b>Total</b>
<b>Parto</b>	31	16	47
<b>Perda</b>	7	10	17
<b>Total</b>	38	26	64

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	3,178	1	0,075

Análise 122. Comparação das taxas de perda de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, de acordo com o mês da cobertura, entre os meses de janeiro e fevereiro

Frequência	Janeiro	Fevereiro	Total
<b>Parto</b>	16	20	36
<b>Perda</b>	10	22	32
<b>Total</b>	26	42	68

Teste Estatístico	Valor	GL	P
<b>Qui-Quadrado</b>	1,249	1	0,264

### 9.2.7. Análises estatísticas referentes à avaliação do sexo dos produtos

Análise 1. Comparação do sexo dos produtos de acordo com a idade de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado nos diluidores LPDG ou GGO

Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	Variância	T	DF	Prob>[T]
<b>Fêmea</b>	50	9,12	3,62	0,51	Desigual	-0,7573	82,6	0,4510
<b>Macho</b>	40	9,71	3,73	0,59	Igual	-0,7599	88,0	0,4493

Para HO: Variâncias são iguais,  $F' = 1,06$  DF=39,49 Prob>F = 0,8309

Análise 2. Comparação do sexo dos produtos de acordo com a duração

Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	Variância	T	DF	Prob>[T]
<b>Fêmea</b>	38	344,57	10,44	1,69	Desigual	0,7794	64,6	0,4386
<b>Macho</b>	32	342,56	11,05	1,95	Igual	0,7833	68,0	0,4362

Para HO: Variâncias são iguais,  $F' = 1,12$  DF=31,37 Prob>F = 0,7361

Análise 3. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado

Frequência	Fêmea	Macho	Total
<b>Sêmen Fresco</b>	9	11	20
<b>Sêmen Resfriado</b>	41	29	70
<b>Total</b>	50	40	90

Teste Estatístico	Valor	GL	P
<b>Qui-Quadrado</b>	1,160	1	0,281

Análise 4. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen diluído nos diluidores LPDG ou GGO

Frequência	Fêmea	Macho	Total
<b>GGO</b>	23	21	44
<b>LPDG</b>	27	19	46
<b>Total</b>	50	40	90

Teste Estatístico	Valor	GL	P
<b>Qui-Quadrado</b>	0,376	1	0,540

Análise 5. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor GGO

Frequência	Fêmea	Macho	Total
GGO Fresco	5	7	12
GGO Resfriado	18	14	32
<b>Total</b>	23	21	44

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,744	1	0,388

Análise 6. Comparação do sexo do produto de éguas inseminadas com sêmen a fresco ou resfriado diluído no diluidor LPDG

Frequência	Fêmea	Macho	Total
LPDG Fresco	4	4	8
LPDG Resfriado	23	15	38
<b>Total</b>	27	19	46

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,302	1	0,583

**9.3. Análises referentes aos Experimentos IIIa – Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado, diluído em diluidor de LPDG ou LGO e IIIb – Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado em diluidor LPDG, nas doses de  $400 \times 10^6$  ou  $800 \times 10^6$  de espermatozoides móveis**

9.3.1. Análises referentes à tabela 27

Análise 1. Distribuição das éguas utilizadas no experimento por categoria reprodutiva

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Cio do potro	Parida	Potro ao pé	Solteira	
400	14	12	3	12	41
800	10	15	4	9	38
LG	7	5	1	8	21
MC	6	4	1	12	23
<b>Total</b>	37	36	9	41	123

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	8,131	9	0,521

9.3.2. Análises referentes à tabela 28

Análise 2. Distribuição das éguas por reprodutor e tratamento

Tratamento	Reprodutor					Total
	Eclipse	Infante	Lorde	Prelúdio	Tigre	
400	8	6	15	7	5	41
800	7	5	15	6	5	38
LGO	6	2	8	2	3	21
MC	5	3	9	3	3	23
<b>Total</b>	26	16	47	18	16	123

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,730	12	1,000

9.3.3. Análises referentes à tabela 29

Análise 3. Efeito da idade sobre as perdas gestacionais de éguas inseminadas

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	4,7756	1,5919	0,14	0,9347
<b>Erro</b>	119	1335,8870	11,2259		
<b>Total</b>	122	1340,6626			

**Coefficiente de variação:** 32,64263

Análise 4. Efeito do número de inseminações sobre as perdas gestacionais de éguas inseminadas

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	7,0280	2,3427	2,37	0,0741
<b>Erro</b>	119	117,6712	0,9888		
<b>Total</b>	122	124,6992			

**Coefficiente de variação:** 54,84812

Análise 5. Idade média das éguas pertencentes aos quatro tratamentos

<b>Tratamento</b>	<b>Idade</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>400</b>	10,1585	0,5233	0,0001
<b>800</b>	10,2763	0,5435	
<b>LGO</b>	10,6667	0,7311	
<b>MC</b>	10,0652	0,6986	

Análise 6. Número médio de inseminações realizadas por tratamento

<b>Tratamento</b>	<b>Número de IA's</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>400</b>	1,9512	0,1553	0,0001
<b>800</b>	2,0263	0,1613	
<b>LGO</b>	1,4286	0,2170	
<b>MC</b>	1,5652	0,2073	

Análise 7. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído nos diluidores LGO ou LPDG, ou diluído no diluidor LPDG nas doses de 400 ou 800 x 10<sup>6</sup> milhões de espermatozoides móveis

<b>Tratamento</b>	<b>Taxa de Concepção</b>		
	<b>Negativo</b>	<b>Positiva</b>	<b>Total</b>
<b>400</b>	24	17	41
<b>800</b>	20	18	38
<b>LGO</b>	20	1	21
<b>LPDG</b>	10	13	23
<b>Total</b>	74	49	123

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	14,396	3	0,002



Análise 8. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO ou LPDG

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
LGO	20	1	21
LPDG	10	13	23
Total	30	14	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	13,556	1	0,001

Análise 9. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LPDG ou em diluidor LPDG, na dose de  $400 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
400	24	17	41
LPDG	10	13	23
Total	34	30	64

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,342	1	0,247

Análise 10. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LPDG ou em diluidor de LPDG, na dose de  $800 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
800	20	18	38
LPDG	10	13	23
Total	30	31	61

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,480	1	0,488

Análise 11. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO, ou em diluidor LPDG, na dose de  $400 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
400	24	17	41
LGO	20	1	21
Total	44	18	62

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	9,079	1	0,003

Análise 12. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO, ou em diluidor LPDG, na dose de  $800 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
800	20	18	38
LGO	20	1	21
<b>Total</b>	40	19	59

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	11,246	1	0,001

Análise 13. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LPDG, nas doses de 400 ou  $800 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
400	24	17	41
800	20	18	38
<b>Total</b>	44	35	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,279	1	0,598

Análise 14. Comparação das taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO ou LPDG, ou em diluidor LPDG, na dose de 400 ou  $800 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção		Total
	Negativo	Positiva	
400	16	1	17
800	17	1	18
LGO	0	1	1
LPDG	9	4	13
<b>Total</b>	42	7	49

Obs.: Não foi possível a realização das análises estatísticas devido ao pequeno número amostral.

#### 9.3.4. Análises referentes à tabela 30.

Análise 15. Diagnóstico de gestação de éguas inseminadas com sêmen resfriado, diluído em diluidor LGO ou LPDG, ou em diluidor LPDG, na dose de 400 ou  $800 \times 10^6$  de espermatozoides móveis

Tratamento	Taxa de Concepção			Total
	Negativa	Não examinada	Positiva	
400	16	17	8	41
800	14	12	12	38
LGO	19	1	1	21
LPDG	8	3	12	23
<b>Total</b>	57	33	33	123

Análise 16. Diagnóstico de gestação no tempo 1

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	0,8455	0,2818	0,14	0,9359
<b>Erro</b>	86	173,2545	2,0146		
<b>Total</b>	89	174,1000			

**Coefficiente de variação:** 10,46212

Análise 17. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 1

<b>Tratamento</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>400</b>	13,7083	0,2897	0,0001
<b>800</b>	13,5769	0,2784	
<b>LG</b>	13,5000	0,3174	
<b>MC</b>	13,4500	0,3174	

Análise 18. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 2.

<b>Tratamento</b>	<b>Diagnóstico 2</b>				
	<b>Negativa</b>	<b>Não examinada</b>	<b>Perda</b>	<b>Positiva</b>	<b>Total</b>
<b>400</b>	8	1	1	15	25
<b>800</b>	6	5	0	13	24
<b>LG</b>	1	0	1	0	2
<b>MC</b>	2	5	0	8	15
<b>Total</b>	17	11	2	36	66

Análise 19. Diagnóstico de gestação no tempo 2

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	55,4389	18,4796	0,79	0,5035
<b>Erro</b>	51	1188,6702	23,3073		
<b>Total</b>	54	1244,1091			

**Coefficiente de variação:** 20,69577

Análise 20. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 2, entre os tratamentos

<b>Tratamento</b>	<b>Diagnóstico 2</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>400</b>	22,5833	0,9855	0,0001
<b>800</b>	23,4737	1,1076	
<b>LG</b>	21,5000	3,4137	
<b>MC</b>	25,2000	1,5267	

Análise 21. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 3, entre os tratamentos

<b>Tratamento</b>	<b>Diagnóstico 3</b>		
	<b>Não examinada</b>	<b>Positiva</b>	<b>Total</b>
<b>400</b>	8	8	16
<b>800</b>	11	7	18
<b>LG</b>	0	0	0
<b>MC</b>	7	6	13
<b>Total</b>	26	21	47

Análise 22. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 3

**Análise de Variância**

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	2	45,1488	22,5744	2,83	0,0857
Erro	18	143,8036	7,9891		
Total	20	188,9524			

Coefficiente de variação: 8,301601

Análise 23. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 3, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 3	Erro Padrão	p
400	35,8750	0,9993	0,0001
800	33,2857	1,0683	
MC	32,5000	1,1539	

Análise 24. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 4, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 4		
	Não examinada	Positiva	Total
400	11	5	16
800	10	8	18
LG	0	0	0
MC	13	0	13
Total	34	13	47

Análise 25. Diagnóstico de gestação no tempo 4

**Análise de Variância**

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	1	4,0692	4,0692	0,27	0,6125
Erro	11	164,7000	14,9727		
Total	12	168,7692			

Coefficiente de variação: 7,125070

Análise 26. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 4

Tratamento	Diagnóstico 2	Erro Padrão	p
400	53,6000	1,7305	0,0001
800	54,7500	1,3681	

Análise 27. Número de éguas não examinadas, positivas ou negativas ao diagnóstico 5, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 5			
	Não examinada	Perda	Positiva	Total
400	8	0	8	16
800	11	1	6	18
LG	0	0	0	0
MC	0	4	9	13
Total	19	5	23	47

Análise 28. Diagnóstico de gestação no tempo 5

**Análise de Variância**

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	2	84,3626	42,1813	1,15	0,3326
Erro	25	916,3516	36,6541		
Total	27	1000,7143			

Coefficiente de variação: 7,740607

Análise 29. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 5, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 5	Erro Padrão	p
400	76,5000	2,1405	0,0001
800	76,7143	2,2883	
MC	80,0769	1,6791	

Análise 30. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 6, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 6		Total
	Não examinada	Positiva	
400	3	13	16
800	5	12	17
LG	0	0	0
MC	6	3	9
<b>Total</b>	14	28	42

Análise 31. Diagnóstico de gestação no tempo 6

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	2	109,2482	54,6241	0,70	0,5070
Erro	25	1956,6089	78,2644		
<b>Total</b>	27	2065,8571			

**Coefficiente de variação:** 8,273481

Análise 32. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 6, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 6	Erro Padrão	p
400	107,8462	2,4536	0,0001
800	104,9167	2,5538	
MC	111,0000	5,1077	

Análise 33. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 7, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 7		Total
	Não examinada	Positiva	
400	3	13	16
800	5	12	17
LG	0	0	0
MC	2	7	9
<b>Total</b>	10	32	42

Análise 34. Diagnóstico de gestação no tempo 7

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	2	945,7605	472,8803	12,08	0,0002
Erro	29	1135,1144	39,1419		
<b>Total</b>	31	2080,8750			

**Coefficiente de variação:** 4,572935

Análise 35. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 7, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 7	Erro Padrão	p
400	141,6923	1,7352	0,0001
800	137,0833	1,8061	
MC	127,2857	2,3647	

Análise 36. Número de éguas não examinadas e positivas ao diagnóstico 8, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 8		Total
	Não examinada	Positiva	
400	7	9	16
800	7	10	17
LG	0	0	0
MC	0	9	9
<b>Total</b>	14	28	42

Análise 37. Diagnóstico de gestação no tempo 8

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	2	435,0865	217,5433	2,99	0,0688
Erro	25	1821,8778	72,8751		
<b>Total</b>	27	2256,9642			

Coefficiente de variação: 5,110699

Análise 38. Tempo médio da gestação ao diagnóstico 8, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 8	Erro Padrão	p
400	170,7778	2,8456	0,0001
800	168,7000	2,6995	
MC	161,4444	2,8456	

9.3.5. Análises referentes à tabela 31.

Análise 39. Distribuição das éguas por mês de ocorrência da ovulação, entre os tratamentos

Tratamento	Mês da ovulação			Total
	Dezembro	Novembro	Outubro	
400	22	19	0	41
800	18	20	0	38
LG	0	4	17	21
MC	0	5	18	23
<b>Total</b>	40	48	35	123

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	91,661	6	0,001

9.3.6. Análises referentes à tabela 32

Análise 40. Comparação das taxas de concepção entre os meses da estação de monta

Mês da ovulação	Taxa de concepção		Total
	Negativa	Positiva	
Dezembro	22	18	40
Novembro	27	21	48
Outubro	25	10	35
<b>Total</b>	74	49	123

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,605	2	0,272

Análise 41. Comparação das taxas de perda gestacional entre os meses da estação de monta

Mês da ovulação	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro	17	1	18
Novembro	18	3	21
Outubro	7	3	10
<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>7</b>	<b>49</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	3,137	2	0,208

Análise 42. Número de éguas não examinadas, negativas ou positivas e número de perdas gestacionais entre os meses da estação de monta

Mês da ovulação	Diagnóstico 2				Total
	Negativa	Não examinada	Perda	Positiva	
Dezembro	9	4	0	14	27
Novembro	4	3	2	16	25
Outubro	3	4	0	6	13
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>2</b>	<b>36</b>	<b>65</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	7,298	6	0,294

Análise 43. Número de éguas não examinadas, número de perdas gestacionais e de éguas positivas entre os meses da estação de monta

Mês da ovulação	Diagnóstico 5				Total
	Não examinada	Perda	Positiva		
Dezembro	6	1	11		18
Novembro	13	1	5		19
Outubro	0	3	7		10
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>5</b>	<b>23</b>		<b>47</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	15,866	4	0,003

#### 9.4. Análises referentes ao Experimento IV

Análise 1. Tempo médio das gestações em cada diagnóstico

Variável	N	Média	Erro P	Mínimo	Máximo	CV
Idade	74	11,5946	0,4040	2,0000	21,0000	29,9763
Ciclo	74	1,1486	0,0416	1,0000	2,0000	31,1819
Nº de IA's	73	2,2192	0,1369	1,0000	7,0000	52,7041
Diagnóstico 1	51	12,6667	0,1808	11,0000	15,0000	10,1921
Diagnóstico 2	37	23,0000	0,7504	16,0000	30,0000	19,8450
Diagnóstico 3	22	37,2727	1,1342	27,0000	44,0000	14,2733
Diagnóstico 4	14	54,0714	1,0080	47,0000	59,0000	6,9753
Diagnóstico 5	39	73,3846	1,4011	61,0000	90,0000	11,9232
Diagnóstico 6	33	105,1212	1,5965	91,0000	120,0000	8,7243
Diagnóstico 7	35	132,2286	1,5130	121,0000	149,0000	6,7694
Diagnóstico 8	9	164,7778	3,6960	151,0000	179,0000	6,7291
Época	10	35,1000	6,2560	15,0000	80,0000	56,3626

9.4.1. Análises referentes à tabela 15

Análise 2. Distribuição das éguas, por categoria reprodutiva e tratamento

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Cio do Potro	Parida	Potra	Solteira	
Garanhão	3	18	0	17	38
Jumento	2	17	3	14	36
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>35</b>	<b>3</b>	<b>31</b>	<b>74</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	3,467	3	0,325

9.4.2. Análises referentes à tabela 16

Análise 3. Distribuição das éguas por reprodutor e tratamento

Tratamento	Reprodutor					Total
	Astro	Atacama	Cometa	Everest	Faisca	
Garanhão	24	0	0	0	8	38
Jumento	0	5	3	5	0	36
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>74</b>

Tratamento	Reprodutor (Continuação)					Total
	Infante	Lorde	Marcio	Pampa P	Preludio	
C	0	0	0	6	0	38
J	2	10	7	0	4	36
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>74</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	74,000	9	0,001

9.4.3. Análises referentes à tabela 33

Análise 4. Idade média das éguas por tratamento

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
1	38	11,8158	2,6646	0,4323	Desigual	0,5533	58,8	0,5821
2	36	11,3611	4,1929	0,6988	Igual	0,5598	72,0	0,5773
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F' = 2,48</b>					<b>DF = 35,37</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,0076</b>		

Análise 5. Número médio de cobrições por tratamento

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
1	38	2,3158	1,2104	0,1964	Desigual	0,7351	71,0	0,4647
2	35	2,1143	1,1317	0,1913	Igual	0,7330	71,0	0,4660
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F' = 1,14</b>					<b>DF = 37,34</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,6947</b>		

Análise 6. Taxas de concepção de éguas cobertas por garanhões ou jumentos

Tratamento	Taxa de Concepção		
	Negativa	Positiva	Total
Garanhão	10	28	38
Jumento	8	28	36
<b>Total</b>	<b>18</b>	<b>56</b>	<b>74</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,168	1	0,682



Análise 7. Taxas de perda gestacional de égua cobertas por garanhões ou jumentos

Tratamento	Taxa de Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	20	8	28
Jumento	26	2	28
<b>Total</b>	46	10	56

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,383	1	0,036

Análise 8. Época da perda gestacional entre os tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
	8	38,2500	20,7468	7,3351	Desigual	1,5013	3,4	0,2216
	2	22,5000	10,6066	7,5000	Igual	1,0079	8,0	0,3430

**Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 3,83      DF= 7,1    Prob>F' = 0,7502**

9.4.4. Análises referentes à tabela 34

Análise 9. Número de éguas não examinadas, negativas ou positivas ao diagnóstico 1, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 1			Total
	Negativa	Não examinada	Positiva	
Garanhão	10	5	23	38
Jumento	8	8	20	36
<b>Total</b>	18	13	43	74

Análise 10. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 2, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 2			Total
	Não examinada	Perda	Positiva	
Garanhão	11	1	16	28
Jumento	8	1	19	28
<b>Total</b>	19	2	35	56

Análise 11. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 3, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 3			Total
	Não examinada	Perda	Positiva	
Garanhão	15	4	8	27
Jumento	17	1	9	27
<b>Total</b>	32	5	17	54

Análise 12. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 4, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 4			Total
	Não examinada	Perda	Positiva	
Garanhão	16	1	6	23
Jumento	19	0	7	26
<b>Total</b>	35	1	13	49

Análise 13. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 5, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 5			
	Não examinada	Perda	Positiva	Total
<b>Garanhão</b>	3	1	18	22
<b>Jumento</b>	6	0	20	26
<b>Total</b>	9	1	38	48

Análise 14. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 6, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 6			
	Não examinada	Perda	Positiva	Total
<b>Garanhão</b>	4	1	16	21
<b>Jumento</b>	10	0	16	26
<b>Total</b>	14	1	32	47

Análise 15. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 7, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 7		
	Não examinada	Positiva	Total
<b>Garanhão</b>	1	19	20
<b>Jumento</b>	10	16	26
<b>Total</b>	11	35	46

Análise 16. Número de éguas não examinadas, positivas e negativas, ao diagnóstico 8, entre os tratamentos

Tratamento	Diagnóstico 8		
	Não examinada	Positiva	Total
<b>Garanhão</b>	16	4	20
<b>Jumento</b>	21	5	26
<b>Total</b>	37	9	46

Análise 17. Tempo médio ao diagnóstico 1, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
<b>Garanhão</b>	28	12,6071	1,3149	0,2485	Desigual	-0,3609	47,5	0,7198
<b>Jumento</b>	23	12,7391	1,2869	0,2683	Igual	-0,3601	49,0	0,7203
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,04</b>					<b>DF= 27,22</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,9277</b>		

Análise 18. Tempo médio ao diagnóstico 2, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
<b>Garanhão</b>	17	23,4118	4,3165	1,0469	Desigual	0,5055	34,9	0,6164
<b>Jumento</b>	20	22,6500	4,8480	1,0840	Igual	0,5006	35,0	0,6198
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,26</b>					<b>DF= 19,16</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,6447</b>		

Análise 18. Tempo médio ao diagnóstico 3, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
<b>Garanhão</b>	12	37,0000	5,1874	1,4974	Desigual	-0,2550	18,4	0,8015
<b>Jumento</b>	10	37,0000	5,7388	1,8178	Igual	-0,2575	20,0	0,7994
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,22</b>					<b>DF= 9,11</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,7397</b>		

Análise 19. Tempo médio ao diagnóstico 4, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Garanhão	7	54,0000	4,4721	1,6903	Desigual	-0,0681	11,0	0,9469
Jumento	7	54,1428	3,2878	1,2427	Igual	-0,0681	12,0	0,9468
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,85</b>					<b>DF= 6,6</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,4730</b>		

Análise 20. Tempo médio ao diagnóstico 5, nos tratamentos.

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Garanhão	19	72,7368	9,1581	2,1010	Desigual	-0,4450	36,4	0,6589
Jumento	20	74,0000	8,5348	1,9084	Igual	-0,4459	37,0	0,6583
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,15</b>					<b>DF= 18,19</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,7616</b>		

Análise 21. Tempo médio ao diagnóstico 6, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Garanhão	17	102,3529	8,7174	2,1143	Desigual	-1,8525	30,7	0,0736
Jumento	16	108,0625	8,9701	2,2425	Igual	-1,8542	31,0	0,0733
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,06</b>					<b>DF= 15,16</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,9075</b>		

Análise 22. Tempo médio ao diagnóstico 7, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Garanhão	19	132,1579	8,8334	2,0265	Desigual	-0,0499	31,2	0,9605
Jumento	16	132,3125	9,3788	2,3447	Igual	-0,0502	33,0	0,9603
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,13</b>					<b>DF= 15,18</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,7994</b>		

Análise 23. Tempo médio ao diagnóstico 8, nos tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Garanhão	4	163,0000	10,0995	5,0498	Desigual	-0,4193	7,0	0,6876
Jumento	5	166,2000	12,7945	5,7219	Igual	-0,4072	7,0	0,6960
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,60</b>					<b>DF= 4,3</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,7269</b>		

9.4.5. Análises referentes à tabela 35

Análise 24. Distribuição dos ciclos por mês de concepção e tratamento

Mês da ovulação	Tratamento		Total
	Garanhão	Jumento	
Outubro	3	2	5
Novembro	5	3	8
Dezembro	7	13	20
Janeiro	8	6	14
Fevereiro	12	12	24
Março	3	0	3
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>36</b>	<b>74</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	5,736	5	0,333

9.4.6. Análises referentes à tabela 36

Análise 25. Taxas de concepção entre os meses da estação de monta

Mês da ovulação	Taxa de Concepção		
	Negativo	Positivo	Total
Outubro	1	4	5
Novembro	3	5	8
Dezembro	2	18	20
Janeiro	3	11	14
Fevereiro	7	17	24
Março	2	1	3
<b>Total</b>	18	56	74

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	6,326	5	0,276

Análise 26. Taxas de perda gestacional entre os meses da estação de monta

Mês da ovulação	Perdas		
	Não	Sim	Total
Outubro	2	2	4
Novembro	5	0	5
Dezembro	15	3	18
Janeiro	10	1	11
Fevereiro	14	3	17
Março	0	1	1
<b>Total</b>	46	10	56

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	9,099	5	0,105

**9.5. Análises referentes ao Experimento V – Fertilidade e perdas gestacionais de éguas submetidas à cruzamentos intra ou interespécies**

9.5.1. Análises referentes à tabela 37

Análise 1. Efeito do jumento ou do garanhão sobre as taxas de gestação

Diagnóstico	Reprodutor		
	Garanhão	Jumento	Total
Negativo	10	128	138
Positivo	28	218	246
<b>Total</b>	38	346	384

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,696	1	0,193

Análise 2. Efeito do jumento ou do garanhão sobre as perdas gestacionais

Perdas	Reprodutor		
	Garanhão	Jumento	Total
Não	19	145	164
Sim	8	53	61
<b>Total</b>	27	198	225

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,098	1	0,754

9.5.2. Análises estatísticas referentes à tabela 38

Análise 3. Efeito da categoria reprodutiva das éguas cobertas com garanhões sobre as perdas gestacionais

Perdas	Categoria Reprodutiva			Total
	Égua Solteira	Parida	Cio do Potro	
Não	8	11	0	19
Sim	2	5	1	8
<b>Total</b>	10	16	1	27

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,840	2	0,242

Análise 4. Efeito da categoria reprodutiva das éguas cobertas com jumentos sobre as perdas gestacionais

Perdas	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Solteira	Parida	Cio do Potro	
Não	9	56	43	37	145
Sim	4	17	22	10	53
<b>Total</b>	13	73	65	47	198

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,942	3	0,401

Análise 5. Efeito da categoria reprodutiva das éguas sobre as perdas gestacionais

Perdas	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Solteira	Parida	Cio do Potro	
Não	9	64	54	37	164
Sim	4	19	27	11	61
<b>Total</b>	13	83	81	48	225

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,850	3	0,415

Análise 6. Efeito da utilização de jumentos ou garanhões sobre as perdas gestacionais de éguas solteiras

Reprodutor	Perdas		Total
	Não	Sim	
Garanhões	8	2	10
Jumentos	56	17	73
<b>Total</b>	64	19	83

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,054	1	0,816

Análise 7. Efeito da utilização de jumentos ou garanhões sobre as perdas gestacionais de éguas paridas

Reprodutor	Perdas		Total
	Não	Sim	
Garanhões	11	5	16
Jumentos	43	22	65
<b>Total</b>	54	27	81

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,039	1	0,844

Análise 8. Efeito da utilização de jumentos ou garanhões sobre as perdas gestacionais de éguas no cio do potro

Reprodutor	Perdas		Total
	Não	Sim	
Garanhões	0	1	1
Jumentos	37	10	47
<b>Total</b>	37	11	48

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	3,435	1	0,064

9.5.3. Análises referentes à tabela 39

Análise 9. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por garanhões

Perdas	Mês da Cobrição						Total
	Dezembro	Fevereiro	Janeiro	Março	Novembro	Outubro	
Não	5	5	6	0	2	1	19
Sim	1	3	1	1	0	2	8
<b>Total</b>	6	8	7	1	2	3	27

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	6,702	5	0,244

Análise 10. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Perdas	Mês da Cobrição						Total
	Dezembro	Fevereiro	Janeiro	Março	Novembro	Outubro	
Não	50	22	18	3	44	8	8
Sim	9	20	10	3	8	3	3
<b>Total</b>	59	42	28	6	52	11	11

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	19,539	5	0,002

Análise 11. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (novembro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Novembro	Outubro	
Não	44	8	52
Sim	8	3	11
<b>Total</b>	52	11	63

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,890	1	0,345

Análise 12. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Outubro	
Não	50	8	58
Sim	9	3	12
<b>Total</b>	59	11	70

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,943	1	0,332

Análise 13. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (janeiro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Janeiro	Outubro	
Não	18	8	26
Sim	10	3	13
<b>Total</b>	28	11	39

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,253	1	0,615

Análise 14. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Fevereiro	Outubro	
Não	22	8	30
Sim	20	3	23
<b>Total</b>	42	11	53

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	1,469	1	0,225

Análise 15. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (março x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Março	Outubro	
Não	3	8	11
Sim	3	3	6
<b>Total</b>	6	11	17

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,878	1	0,349

Análise 16. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x novembro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Novembro	
Não	50	44	94
Sim	9	8	17
<b>Total</b>	59	52	111

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,000	1	0,985

Análise 17. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (janeiro x novembro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Janeiro	Novembro	
Não	18	44	62
Sim	10	8	18
<b>Total</b>	28	52	80

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,314	1	0,038

Análise 18. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x novembro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Fevereiro	Novembro	
Não	22	44	66
Sim	20	8	28
<b>Total</b>	42	52	94

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	11,543	1	0,001

Análise 19. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (março x novembro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Março	Novembro	
Não	3	44	47
Sim	3	8	11
<b>Total</b>	6	52	58

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,194	1	0,041

Análise 20. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x janeiro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Janeiro	
Não	50	18	68
Sim	9	10	19
<b>Total</b>	59	28	87

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,657	1	0,031



Análise 21. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x fevereiro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Fevereiro	
Não	50	22	72
Sim	9	20	29
<b>Total</b>	59	42	101

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	12,556	1	0,001

Análise 22. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (dezembro x março)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Março	
Não	50	3	53
Sim	9	3	12
<b>Total</b>	59	6	65

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	4,368	1	0,037

Análise 23. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x janeiro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Fevereiro	Janeiro	
Não	22	18	40
Sim	20	10	30
<b>Total</b>	42	28	70

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,972	1	0,324

Análise 24. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (janeiro x março)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Janeiro	Março	
Não	18	3	21
Sim	10	3	13
<b>Total</b>	28	6	34

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,427	1	0,513

Análise 25. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos (fevereiro x março)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Fevereiro	Março	
Não	22	3	25
Sim	20	3	23
<b>Total</b>	42	6	48

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,012	1	0,913

Análise 26. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões

Perdas	Mês da Cobrição						Total
	Dezembro	Fevereiro	Janeiro	Março	Novembro	Outubro	
Não	55	27	24	3	46	9	164
Sim	10	23	11	4	8	5	61
<b>Total</b>	65	50	35	7	54	14	225

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	21,732	5	0,001

Análise 27. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (novembro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Novembro	Outubro	
Não	46	9	55
Sim	8	5	13
<b>Total</b>	54	14	68

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	3,140	1	0,076

Análise 28. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Outubro	
Não	55	9	64
Sim	10	5	15
<b>Total</b>	65	14	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	3,095	1	0,079

Análise 29. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (janeiro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Janeiro	Outubro	
Não	24	9	33
Sim	11	5	16
<b>Total</b>	34	14	49

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,084	1	0,773

Análise 30. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (fevereiro x outubro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Fevereiro	Outubro	
Não	27	9	36
Sim	23	5	28
<b>Total</b>	50	14	64

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,470	1	0,493

Análise 31. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (março x outubro)

Perdas	Mês de cobrição		Total
	Março	Outubro	
Não	3	9	12
Sim	4	5	9
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,875	1	0,350

Análise 32. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x novembro)

Perdas	Mês de cobrição		Total
	Dezembro	Novembro	
Não	55	46	101
Sim	10	8	18
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>54</b>	<b>119</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,007	1	0,931

Análise 33. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (janeiro x novembro)

Perdas	Mês de cobrição		Total
	Janeiro	Novembro	
Não	24	46	70
Sim	11	8	19
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>54</b>	<b>89</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	3,491	1	0,062

Análise 34. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (fevereiro x novembro)

Perdas	Mês de cobrição		Total
	Fevereiro	Novembro	
Não	27	46	73
Sim	23	8	31
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>54</b>	<b>104</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	12,067	1	0,001

Análise 35. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (março x novembro)

Perdas	Mês de cobrição		Total
	Março	Novembro	
Não	3	46	49
Sim	4	8	12
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>54</b>	<b>61</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	7,026	1	0,008

Análise 36. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x janeiro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Janeiro	
Não	55	24	79
Sim	10	11	21
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	3,530	1	0,060

Análise 37. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x fevereiro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Fevereiro	
Não	55	27	82
Sim	10	23	33
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>50</b>	<b>115</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	12,946	1	0,001

Análise 38. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (dezembro x março)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Dezembro	Março	
Não	55	3	58
Sim	10	4	14
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>7</b>	<b>72</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	7,035	1	0,008

Análise 39. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (fevereiro x janeiro)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Fevereiro	Janeiro	
Não	27	24	51
Sim	23	11	34
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>35</b>	<b>85</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,821	1	0,177

Análise 40. Efeito do mês da cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (janeiro x março)

Perdas	Mês de cobertura		Total
	Janeiro	Março	
Não	24	3	27
Sim	11	4	15
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>7</b>	<b>42</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,680	1	0,195

Análise 41. Efeito do mês da cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões (fevereiro x março)

Perdas	Mês de cobrição		Total
	Fevereiro	Março	
Não	27	3	30
Sim	23	4	27
<b>Total</b>	50	7	57

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,306	1	0,580

Análise 42. Efeito da cobrição com jumento ou garanhão no mês de Outubro

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	1	2	3
Jumento	8	3	11
<b>Total</b>	9	5	14

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,593	1	0,207

Análise 43. Efeito da cobrição com jumento ou garanhão no mês de Novembro

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	2	0	2
Jumento	44	8	52
<b>Total</b>	46	8	54

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,361	1	0,548

Análise 44. Efeito da cobrição com jumento ou garanhão no mês de Dezembro

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	5	1	6
Jumento	50	9	59
<b>Total</b>	55	10	65

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,008	1	0,927

Análise 45. Efeito da cobrição com jumento ou garanhão no mês de Janeiro

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	6	1	7
Jumento	18	10	28
<b>Total</b>	24	11	35

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,193	1	0,275

Análise 46. Efeito da cobrição com jumento ou garanhão no mês de Fevereiro

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	5	3	8
Jumento	22	20	42
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>23</b>	<b>50</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,277	1	0,599

Análise 47. Efeito da cobrição com jumento ou garanhão no mês de Março

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	0	1	1
Jumento	3	3	6
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>7</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,875	1	0,350

9.5.4. Análises referentes à tabela 40

Análise 48. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por garanhões

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	11	2	13
Fevereiro/Março	5	4	9
Outubro/Novembro	3	2	5
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>8</b>	<b>27</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,470	2	0,291

Análise 49. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	68	19	87
Fevereiro/Março	25	23	48
Outubro/Novembro	52	11	63
<b>Total</b>	<b>145</b>	<b>53</b>	<b>198</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	14,814	2	0,001

Análise 50. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	68	19	87
Outubro/Novembro	52	11	63
<b>Total</b>	<b>120</b>	<b>30</b>	<b>150</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,438	1	0,508

Análise 51. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Fevereiro/Março	25	23	48
Outubro/Novembro	52	11	63
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>34</b>	<b>111</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	11,893	1	0,001

Análise 52. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	68	19	87
Fevereiro/Março	25	23	48
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>42</b>	<b>135</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	9,815	1	0,002

Análise 53. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e ganhanções

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	79	21	100
Fevereiro/Março	30	27	57
Outubro/Novembro	55	13	68
<b>Total</b>	<b>164</b>	<b>61</b>	<b>225</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	15,925	2	0,001

Análise 54. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e ganhanções

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	79	21	100
Outubro/Novembro	55	13	68
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>34</b>	<b>168</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,089	1	0,766

Análise 55. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e ganhanções

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Fevereiro/Março	30	27	57
Outubro/Novembro	55	13	68
<b>Total</b>	<b>85</b>	<b>40</b>	<b>125</b>

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	11,373	1	0,001

Análise 56. Efeito do bimestre sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos e garanhões

Bimestre	Perda		Total
	Não	Sim	
Dezembro/Janeiro	79	21	100
Fevereiro/Março	30	27	57
<b>Total</b>	109	48	157

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	11,893	1	0,001

Análise 57. Efeito da cobertura no bimestre Outubro/Novembro sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas com garanhões e jumentos

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	3	2	5
Jumento	52	11	63
<b>Total</b>	55	13	68

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,522	1	0,217

Análise 58. Efeito da cobertura no bimestre Dezembro/Janeiro sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas com garanhões e jumentos

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	11	2	13
Jumento	68	19	87
<b>Total</b>	79	21	100

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,284	1	0,594

Análise 59. Efeito da cobertura no bimestre Fevereiro/Março sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas com garanhões e jumentos

Reprodutor	Perda		Total
	Não	Sim	
Garanhão	5	4	9
Jumento	25	23	48
<b>Total</b>	30	27	57

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,037	1	0,848

Análise 60. Efeito do mês de cobertura sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	5	73,0780	14,6156	1,02	0,4057
Erro	274	3923,7782	14,3204		
<b>Total</b>	279	3996,8563			

**Coefficiente de variação:** 37,23715



Análise 61. Efeito do mês de cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por jumentos

Perda	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Não	145	9,7862	3,5982	0,2988	Desigual	-1,3793	83,5	0,1715
Sim	53	10,6604	4,0688	0,5589	Igual	-1,4605	196,0	0,1457
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,28</b>					<b>DF=52,144</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,2597</b>		

Análise 62. Efeito do mês de cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por garanhões

<b>Análise de Variância</b>					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	5	21,8721	4,3744	0,58	0,7140
Erro	32	240,8384	7,5262		
Total	37	262,7105			
<b>Coefficiente de variação: 23,21802</b>					

Análise 63. Efeito do mês de cobrição sobre as perdas gestacionais de éguas cobertas por garanhões

Perda	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Não	19	11,1579	2,2051	0,5059	Desigual	-0,4877	15,6	0,6326
Sim	8	11,5625	1,8601	0,6576	Igual	-0,4541	25,0	0,6537
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,41</b>					<b>DF=18,7</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,6735</b>		

## 9.6. Análises referentes à avaliação da duração da gestação

Análise 1. Avaliação da duração da gestação de éguas

<b>Análise de Variância</b>					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	35	3819,8655	109,1390	0,93	0,5846
Erro	35	4108,0500	117,3729		
Total	70	7927,9155			
<b>Coefficiente de variação: 3,151834</b>					

Análise 2. Avaliação da data de perda gestacional de éguas

<b>Análise de Variância</b>					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	30	14873,2444	495,7748	0,93	0,5866
Erro	14	7482,6667	534,4762		
Total	44	22355,9111			
<b>Coefficiente de variação: 72,14586</b>					

Análise 3. Duração da gestação pelo sexo dos produtos

Sexo	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Femea	38	344,5789	10,4484	1,6950	Desigual	0,7794	64,6	0,4386
Macho	32	342,5625	11,0569	1,9546	Igual	0,7833	68,0	0,4362
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,12</b>					<b>DF= 31,37</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,7361</b>		

Análise 4. Duração da gestação pelo diluidor utilizado

Diluidor	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
FO	35	343,7714	10,1781	1,7204	Desigual	0,0303	68,7	0,9759
MC	36	343,6944	11,2194	1,8699	Igual	0,0303	69,0	0,9760
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,22</b>					<b>DF= 35,34</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,5717</b>		

Análise 5. Comparação da duração da gestação de éguas inseminadas

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	3	662,9616	220,9872	2,04	0,1169
Erro	67	7264,9538	108,4321		
Total	70	7927,9155			
Coeficiente de variação: 3,029414					

Teste estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	GGO resfriado	LPDG resfriado	LPDG fresco	GGO fresco
SNK (p<0,05)	a	a	a	a

Análise 6. Avaliação da duração da gestação entre os tratamentos

Tratamento	Duração média da gestação	Erro Padrão	p
GGO Resfriado	337,0000	3,4710	0,0001
GGO Fresco	346,1154	2,0421	
LPDG Fresco	339,8333	4,2511	
LPDG Resfriado	344,4667	1,9012	

Análise 7. Avaliação da duração da gestação, entre os tratamentos

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
Fresco	15	338,1333	8,7003	2,2464	Desigual	-2,6674	26,5	0,0129
Resfriado	56	345,2321	10,6788	1,4270	Igual	-2,3687	69,0	0,0207
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,51</b>					<b>DF= 55,14</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,4032</b>		

Análise 8. Avaliação da duração da gestação, entre os tratamentos, utilizando o diluidor LGO

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
LGO Fresco	9	337,0000	10,2713	3,4238	Desigual	-2,3545	12,8	0,0353
LGO Resfriado	26	346,1154	9,2145	1,8071	Igual	-2,4858	33,0	0,0182
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 1,24</b>					<b>DF= 8,25</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,6328</b>		

Análise 9. Avaliação da duração da gestação, entre os tratamentos, utilizando o diluidor LPDG

Tratamento	N	Média	DP	Erro P	Variância	T	DF	Prob> T
LPDG Fresco	6	339,8333	6,1128	2,4956	Desigual	-1,4000	14,1	0,1832
LPDG Resfriado	3	344,4667	11,9069	2,1739	Igual	-0,9214	34,0	0,3633
<b>Para Ho: Variâncias são iguais, F'= 3,79</b>					<b>DF= 29,5</b>	<b>Prob&gt;F' = 0,1414</b>		

Análise 10. Comparação da duração da gestação, de acordo com o reprodutor utilizado

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	4	566,5386	141,6346	1,27	0,2907
<b>Erro</b>	66	7361,3769	111,5360		
<b>Total</b>	70	7927,9155			

**Coefficiente de variação: 3,072466**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo Teste</b>				
	<b>Jumento 2</b>	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 1</b>
<b>SNK (p&lt;0,05)</b>	a	b	b	b	b

Análise 11. Avaliação da duração média da gestação, entre os reprodutores

<b>Jumento</b>	<b>Duração média da gestação</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	341,3846	2,9291	0,0001
<b>2</b>	365,0000	10,5611	
<b>3</b>	345,7000	3,3397	
<b>4</b>	343,3000	2,3615	
<b>5</b>	343,6667	2,0325	

Análise 12. Avaliação da duração da gestação por reprodutor , excluindo-se o jumento 2

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	107,7659	35,9220	0,32	0,8094
<b>Erro</b>	66	7361,3769	111,5360		
<b>Total</b>	69	7469,1429			

**Coefficiente de variação: 3,075184**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo Teste</b>			
	<b>Jumento 3</b>	<b>Jumento 5</b>	<b>Jumento 4</b>	<b>Jumento 1</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	a	a	a	a

Análise 13. Avaliação da duração média da gestação por reprodutor, excluindo-se o jumento 2

<b>Jumento</b>	<b>Duração média da gestação</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	341,3846	2,9291	0,0001
<b>3</b>	345,7000	3,3397	
<b>4</b>	343,3000	2,3615	
<b>5</b>	343,6667	2,0325	

Análise 14. Duração da gestação pela idade blocada

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	31	4581,7866	147,7996	1,69	0,0614
<b>Erro</b>	38	3317,9848	87,3154		
<b>Total</b>	69	7899,7714			

**Coefficiente de variação: 2,719068**

Análise 15. Data da perda gestacional

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	25	13395,3944	535,8158	1,14	0,3926
<b>Erro</b>	19	8960,5167	471,6061		
<b>Total</b>	44	22355,9111			

**Coefficiente de variação: 67,76992**

Análise 16. Duração da gestação pela idade agrupada

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	369,8920	123,2973	1,09	0,3582
<b>Erro</b>	67	7558,0235	112,8063		
<b>Total</b>	70	7927,9155			

**Coefficiente de variação: 3,089913**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo Teste</b>			
	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	a	a	a	a

Análise 17. Avaliação da duração média da gestação pela idade agrupada

<b>Idade Agrupada</b>	<b>Duração média da gestação</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	344,0909	3,2024	0,0001
<b>2</b>	343,3235	1,8215	
<b>3</b>	341,4118	2,5760	
<b>4</b>	349,2222	3,5403	

Análise 18. Avaliação das datas de perdas gestacionais pela idade agrupada

<b>Análise de Variância</b>					
<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Modelo</b>	3	1297,7146	432,5715	0,84	0,4787
<b>Erro</b>	41	21058,1965	513,6145		
<b>Total</b>	44	22355,9111			

**Coefficiente de variação: 70,72385**

<b>Teste estatístico</b>	<b>Agrupamento pelo Teste</b>			
	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>
<b>SNK (p&gt;0,05)</b>	a	a	a	a

Análise 19. Avaliação das datas médias de perdas gestacionais pela idade blocada

<b>Idade Agrupada</b>	<b>Data média das perdas</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	17,0000	10,1352	0,1011
<b>2</b>	34,1176	5,4966	0,0001
<b>3</b>	32,7273	6,8331	0,0001
<b>4</b>	34,7500	6,5423	0,0001

Análise 20. Análise das perdas gestacionais segundo o sexo dos produtos

<b>Idade Agrupada</b>	<b>Sexo e Perdas gestacionais</b>		<b>Perdas</b>	<b>Total</b>
	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>		
<b>1</b>	7	7	5	19
<b>2</b>	25	18	17	60
<b>3</b>	14	7	11	32
<b>4</b>	4	8	12	24
<b>Total</b>	50	40	45	135

<b>Teste Estatístico</b>	<b>Valor</b>	<b>GL</b>	<b>p</b>
<b>Qui-Quadrado</b>	7,264	6	0,297





9.9 Ficha de controle do comportamento sexual do jumento, avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado e controle das inseminações, utilizadas no Experimento II (Rossi, 2008).

Ficha de Controle dos Jumentos				
Anexo - Figura 7.c. Ficha de controle do comportamento sexual do jumento, avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado e controle das inseminações				
Reprodutor: _____	Data: _____	Nº do ejaculado: _____		
Nº de montas/ejaculado: _____	Hora da coleta: _____			
T. de reação (seg): _____	T. para monta (seg): _____	T. ejaculação (seg): _____		
Volume (mL): _____	Coloração: _____	Odor: _____		
	Motilidade (%): _____	Vigor (0-5): _____	Obs: _____	
-Fresco	_____	_____	_____	
-Diluído LPDG	_____	_____	_____	
-Diluído GGO	_____	_____	_____	
-Resfriado LPDG	_____	_____	_____	
-Resfriado GGO	_____	_____	_____	
<b>Cálculo: concentração / volume do sêmen e do diluidor</b>				
$\frac{\text{_____}}{2} + \text{_____} = \text{_____} \times 5 = \text{_____} \times 10^6 \text{ sptz/mL (A)}$				
<b>(A)</b> _____ x (motil.) _____ = _____ móvcs/mL <b>(B)</b>				
$\frac{400}{\text{(B)}} = \text{_____ mL sêmen/dose (C)}$				
<b>20 (C) = _____ volume Diluidor (D)</b>				
Diluidor LPDG	Nº dose _____	$\times \left( \frac{\text{_____}}{\text{mL sêmen}} + \frac{\text{_____}}{\text{mL diluidor}} \right) + \text{_____ total}$		
Diluidor GGO	Nº dose _____	$\times \left( \frac{\text{_____}}{\text{mL sêmen}} + \frac{\text{_____}}{\text{mL diluidor}} \right) + \text{_____ total}$		
- Horário da Diluição: - Horário do Resfriamento: - Horário da Abertura do Contêiner:				
<b>ÉGUAS INSEMINADAS</b>				
Égua-número	Data	Horário	Pré/Pós	Observações
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____





9.11 Ficha individual de coleta de sêmen utilizada no Experimento III (Carvalho, 2011).

Reprodutor: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Nº do ejaculado: \_\_\_\_\_  
 Hora: \_\_\_\_\_

Nº de montas/ejaculado: \_\_\_\_\_  
 Volume (ml): \_\_\_\_\_ Cor/ aspecto: \_\_\_\_\_

	<b>LPDG</b>		<b>LGO</b>	
<u>Fresco:</u>	Mot (%): _____	Vigor: _____	Mot (%): _____	Vigor: _____
<u>Diluído:</u>	Mot (%): _____	Vigor: _____	Mot (%): _____	Vigor: _____

- Cálculo concentração/ volume de sêmen e diluidor  

$$\frac{1^{\circ}C}{1^{\circ}C} + \frac{2^{\circ}C}{2^{\circ}C} = \frac{\quad}{2} = \quad \times 20 = \quad \times 10^6 \text{ spz/ml}$$

- móveis por ml ([ ] x mot) = \_\_\_\_\_ x \_\_\_\_\_ = \_\_\_\_\_  $\times 10^6$  spz móveis/ml

- vol. sêmen (ml) =  $\frac{400}{\text{móveis/ml}}$  =  $\frac{400}{\quad}$  = \_\_\_\_\_ ml

- vol. diluidor(ml) = 22 - vol. sêmen = \_\_\_\_\_

- Nº doses/ejaculado: \_\_\_\_\_

- Intervalo coleta - diluição: \_\_\_\_\_ Diluição final: \_\_\_\_\_

- Hora resfriamento: \_\_\_\_\_

**AVALIAÇÕES:**

Tempo de armazenamento	LPDG		LGO	
	Mot (%)	Vigor	Mot (%)	Vigor
1ª (____ hs)				
24hs				
48hs				
72hs				

**OBSERVAÇÕES**