

## ASPECTOS RELACIONADOS COM A RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS DA RAÇA BRASILEIRO DE HIPISMO, UTILIZADAS EM PROGRAMA COMERCIAL DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

Carlos Eduardo Camargo<sup>1</sup>  
Romildo Romualdo Weiss<sup>2</sup>  
Luiz Ernandes Kozicki<sup>1\*</sup>  
Marília Pastorello Duarte<sup>3</sup>  
Mario Cesar Garcia Duarte<sup>3</sup>  
Melina Andrea Formighieri Bertol<sup>4</sup>  
Francisco Romano Gaievski<sup>5</sup>  
Guilherme de Medeiros Bastos<sup>6</sup>

### RESUMO

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar alguns aspectos relevantes, com potencial de interferência nos índices de fertilidade, de um Centro Comercial de Transferência de Embriões em éguas da raça Brasileiro de Hipismo. A análise dos dados correspondeu às temporadas reprodutivas de 2003/2004, 2004/2005, 2005/2006 e 2006/2007, perfazendo 699 dados de colheitas de embrião de 120 animais doadores. Dentre as 120 éguas doadoras de embrião, havia animais saudáveis sob o aspecto reprodutivo assim como animais com certas dificuldades na manutenção da gestação. Avaliou-se a conservação do sêmen gerador dos embriões, meses do ano de execução das colheitas, idade embrionária e ovulação (simples ou múltipla). Foram observadas diferenças ( $p < 0,05$ ) relativas ao tipo de sêmen empregado nas inseminações artificiais (IAS), somando-se ao expressivo uso de sêmen congelado nas transferências de embrião (TEs); não houve diferença entre o percentual de embriões colhidos dentro ou fora da estação reprodutiva; observou-se diferença ( $p < 0,01$ ), nas colheitas feitas no dia 7, 8 e 9 pós ovulação ao se comparar com as taxas de recuperação dos dias 6 e 10; relativamente ao tipo de ovulação das éguas (ovulação simples ou múltipla), verificou-se que nas ovulações múltiplas colheu-se maior número de embriões ( $p < 0,01$ ) do que nas simples.

**Palavras-chave:** égua doadora; raça Brasileiro de Hipismo; transferência de embriões; recuperação embrionária; idade embrionária

### SOME RELEVANT FACTORS REGARDING EMBRYONIC RECOVERY RATES IN A PROGRAM OF EMBRYO TRANSFER IN BRAZILIAN JUMPING HORSE MARES

### ABSTRACT

The aim of the present research was to evaluate some relevant aspects, potentially able to interfere in the fertility rates of Brazilian horse jumping mares from a Trade Center of Embryo Transfer. Results from a total of 699 embryos samples from 120 donors animals were

<sup>1</sup> Docente - Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba

<sup>2</sup> Docente - Universidade Federal do Paraná

<sup>3</sup> Médicos Veterinários Autônomos

<sup>4</sup> Mestrado em Processos Biotecnológicos - UFPR

<sup>5</sup> Mestrado em Ciência Animal - Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

<sup>6</sup> Docente - Universidade Estadual do Centro-Oeste

\* Autor para correspondência: e mail: [Kozicki.l@pucpr.br](mailto:Kozicki.l@pucpr.br) – Rua Duque de Caxias, 807, ap.31, CEP 80530-040 - Curitiba - Paraná

considered and analysed, covering the reproductive seasons of the years 2003/2004, 2004/2005; 2005/2006 and 2006/2007. Among the 120 embryo donors, there were both healthy and problem mares, in regard to their reproducing ability. It has been observed significative differences in the artificial inseminations (IAS) in regard to the used method for semen preservation, having an expressive use of frozen semen in the equine embryo transfers (TES). On the other hand, no differences were found in the percentage collected embryo of within or out of the reproductive station, in regard to the collect carried out in different months of the respective year. Concerning to the rates of embryonary recovery and age a difference ( $p < 0.01$ ) has been observed in the collects carried out at the days 7, 8 and 9 after the ovulation, when compared with the recovery rates from the days 6 and 10. Data relative to the embryonary recovery in relation to the mares type of ovulation (single or multiple) it has been found that a larger number of embryos ( $p < 0,01$ ) was observed in mares with multiple ovulation in comparison to those with single ovulation.

**Keywords:** donor mare, jumping mare, embryo transfer, embryo recovery, embryo age,

## FACTORES RELACIONADOS CON LA RECUPERACIÓN EMBRIONARIA EN YEGUAS DE LA RAZA BRASILEÑO DE HIPISMO UTILIZADAS EN PROGRAMAS COMERCIALES DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

### RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar algunos factores relevantes que pueden interferir potencialmente en los índices de fertilidad de un Centro Comercial de Transferencia de Embriones en yeguas de la raza Brasileño de Hipismo. El análisis correspondió a las temporadas reproductivas de 2003/2004, 2004/2005, 2005/2006 y 2006/2007, y se realizó a través de la extracción de 699 datos de colección embrionaria de 120 animales donadores. Entre las 120 yeguas donadoras de embriones, había animales saludables reproductivamente hablando, así como animales con algunas dificultades para la mantener la gestación. Fueron evaluadas las siguientes variables: tipo de conservación de semen generador de los embriones, meses del año en que las colectas eran ejecutadas, días de ovulación de la donadora (edad embrionaria) y tipo de ovulación (única o múltiple). Fueron observadas diferencias ( $p < 0,05$ ) relativas al tipo de semen empleado en las inseminaciones artificiales (IAS), sumándose al uso significativo de semen congelado en las transferencias de embriones (TEs) equinas; en relación a las colectas realizadas en diferentes meses del año, no hubo diferencia entre el porcentaje de embriones colectados dentro o fuera de la estación reproductiva; hablando de las tasas de recuperación y la edad embrionaria, se observó diferencia ( $p < 0,01$ ), en las colectas hechas los días 7, 8 y 9 después de la ovulación al compararse con las tasas de recuperación de los días 6 y 10; los datos referentes a la recuperación embrionaria tomando en consideración el tipo de ovulación (única o múltiple), arrojaron como resultado que en las ovulaciones múltiples se colectó un mayor número de embriones ( $p < 0,01$ ) que durante la ovulación única.

**Palabras claves:** yegua donadora; raza Brasileño de Hipismo; transferencia de embriones; recuperación embrionaria; edad embrionaria.

### INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os profissionais da área de transferência de embrião (TE) têm demonstrado expressivo avanço na aplicabilidade da técnica na espécie equina, executando

em torno de 3.500 transferências, por ano, de acordo com levantamento da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões - IETS (1). Nesse contexto, inserem-se animais jovens, adultos, bem como os idosos, com histórico reprodutivo insatisfatório, em função de insucessos na produção de um potro, seja pela de cobertura natural ou inseminação artificial (IA). As taxas de mortalidade embrionária nas éguas idosas são mais elevadas e a fertilidade decresce com a idade segundo Merkt, Klug e Jochle (2), Lopes (3) e Squires, Carnevale e Mccue (4).

De acordo com Squires, Carnevale e Mccue (4), éguas que estão em competição, são também fortes candidatas a serem submetidas a esta biotecnologia. A qualidade do sêmen a ser utilizado em um programa de TE é um fator de extrema importância, uma vez que a seleção dos garanhões é baseada em suas características morfológicas e desempenho atlético, raramente considerando-se a questão da fertilidade; não é incomum ocorrer a redução da recuperação embrionária devido à utilização de sêmen de má qualidade. A fertilidade do sêmen é extremamente variável entre os garanhões. Segundo Squires, Mccue e Vanderwall (5) e Cuervo-Arango (6) o sêmen fresco geralmente gera melhores resultados de recuperação embrionária do que o sêmen refrigerado ou o congelado. Por sua vez, Backman et al. (7) relatam que a criopreservação do sêmen é dificultada por questões técnicas a serem solucionadas como, por exemplo, a variação individual durante a criopreservação, o baixo rendimento de doses por ejaculado, o intenso manejo das éguas durante as IAs, o maior custo por prenhez, além das significativas variações das taxas de prenhez, em relação às obtidas com a monta natural ou com a IA, ao utilizar-se sêmen fresco ou refrigerado.

Squires et al. (8) estudaram as características reprodutivas de éguas que apresentaram ovulações espontâneas simples ou múltiplas e de éguas superovuladas com extrato de pituitária equina. A recuperação embrionária no sétimo dia pós-ovulação foi de 58,2% para éguas com ovulação simples e de 106% para éguas com ovulação dupla espontânea. Carmo et al. (9), pesquisaram a incidência de ovulações duplas em éguas da raça Brasileiro de Hipismo e suas implicações em um programa de transferência de embriões. De um total de 829 ciclos estrais analisados, 47,0% apresentaram ovulações simples e 53,0% ovulações duplas ou triplas. A taxa de recuperação embrionária foi de 59,0% para os ciclos reprodutivos com ovulações simples e de 88,0% para os ciclos com mais de uma ovulação. Contudo, Losinno, Aguillar e Lisa (10), descreveram algumas particularidades em algumas raças equinas, ao relatarem a incidência de múltipla ovulação em éguas Puro Sangue Inglês, Pólo Argentino, Quarto de Milha e Apaloosa. Recentemente, Raz et al. (11), obtiveram taxas de recuperação embrionária de 73%, ao trabalharem com éguas de um programa comercial de TE durante a estação reprodutiva. Goretti et al. (12), recuperaram 70 e 80 % de embriões, obtidos de éguas tratadas e controles com prostaglandina F2 alfa, dois dias antes da colheita e no dia da colheita embrionária respectivamente.

Fleury e Alvarenga (13), trabalhando em um programa comercial de TE em equinos no Brasil, executaram 917 colheitas de embriões, não verificando diferenças significativas na recuperação embrionária executada nos dias sete, oito e nove pós-ovulação, perfazendo percentuais de 49,3, 58,0 e 54,5% respectivamente. Pesquisadores têm se preocupado com o dia da colheita embrionária. Squires et al. (8) e Daels (14), preconizaram os dias 8 e 9 após a ovulação em éguas mais idosas. Sirois, Ball e Fortune (15), relataram que 50% de embriões colhidos entre 10,5 e 13,5 dias pós-ovulação não se desenvolveram em função do colapso nas mangueiras do lavado sifonado, sendo por isso, descartados. Da mesma forma Squires (16), já ressaltava que os melhores índices de gestação, haviam sido obtidos com embriões de oito dias de idade, ao invés de estruturas embrionárias com nove dias de vida.

Segundo Ginther et al. (17), nas éguas ocorre um padrão de reprodução, tipicamente sazonal, no qual a incidência de ovulação é mínima durante o inverno, aumentando gradativamente durante a primavera, até a máxima ocorrência durante o verão, seguida de redução novamente no outono. Saltiel et al. (18), pesquisando éguas de abatedouro, no sul do

México, verificaram que 10,0% demonstraram ovulações em janeiro e fevereiro, portanto, fora da estação de monta (inverno no Hemisfério Norte).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os tipos de conservação do sêmen equino (fresco, refrigerado, ou congelado), os meses do ano em que as colheitas foram executadas (dentro e fora da estação reprodutiva), o dia da colheita embrionária após a ovulação da doadora e tipo de ovulação (simples ou múltiplas) em relação à taxa de recuperação embrionária em um programa comercial de transferência de embriões em éguas de hipismo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados, dados de 699 colheitas de embrião equino, procedentes de um Centro Comercial de Transferência de Embriões, correspondendo às temporadas reprodutivas de 2003/2004, 2004/2005, 2005/2006 e 2006/2007. As doadoras de embriões eram da raça Brasileiro de Hipismo, com idade entre 5 e 23 anos, num total de 120 éguas reprodutivamente saudáveis ou com dificuldades de conduzir a gestação (dificuldades emanadas de: cistos ou fibrose endometrial em variados graus, má conformação de períneo ou de vulva, endometrite pós IA, insuficiência de progesterona pelo corpo lúteo, senilidade, etc...), mas com bom potencial genético para a utilização em programas comerciais de TE. Os animais foram mantidos em piquetes ou em cocheiras, com acesso à água e ao sal mineralizado *ad libitum*, bem como a uma fonte de volumoso e de concentrado. Foram estudadas as variáveis relacionadas com a recuperação embrionária, tipo de conservação do sêmen (a fresco, refrigerado ou congelado) utilizado nas IAs, os meses do ano em que foram efetuadas as colheitas, o dia da colheita após a ovulação (idade do embrião) e o tipo de ovulação (simples ou múltipla). O sêmen a fresco (colhido por vagina artificial) foi composto pelo ejaculado (obtenção "in loco" na Central de Reprodução Equina), mais uma solução diluente a base de leite em pó desnatado, antibiótico e glicose na diluição de 1:1, gerando uma concentração de 500 milhões de espermatozoides viáveis por dose inseminante, com a média de 80 % de motilidade progressiva; o refrigerado (procedência brasileira de diversos locais), originou-se do ejaculado mais a mesma solução diluidora mencionada, à base de diluição de 3:1, proporcionando um bilhão de espermatozoides por dose inseminante e com 70% de motilidade, transportado no máximo por 24 horas; e o sêmen congelado tinha procedência de Centrais Europeias de Inseminação Artificial com 100 milhões de espermatozoides por palheta, empregando-se de uma a três (dependendo da recomendação da Central de Congelamento), com a motilidade média progressiva de 40 %.

### Análise estatística

Os resultados foram analisados empregando-se o teste do Qui-Quadrado e análise de variância – ANOVA, ao nível de  $\alpha=0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as quatro estações reprodutivas pesquisadas nesse trabalho, foi empregado o sêmen de vários ganhões de fertilidade comprovada. Verificou-se que das 662 colheitas de embrião empreendidas, em 164 havia sido utilizado o sêmen a fresco, em 167 o sêmen refrigerado e em 331 colheitas o sêmen congelado (Tabela 1). Denota-se, portanto, substancial empregabilidade de sêmen congelado nas IAs, contrariamente às afirmações de Squires, Mccue e Vanderwall (5) ao relatarem a restrita utilização do sêmen congelado empregado nesta biotecnologia. Ocorreu que, nestes últimos dez anos, houve pujante aplicabilidade prática do sêmen congelado, em função não só da melhoria das técnicas de congelamento de sêmen equino, bem como da praticidade de seu uso, ao se poder dispor de sêmen de

garanhões de elevada performance, que porventura encontrem-se distantes, ou que tenham vindo a óbito. Esses fatos colaboraram para uma sensível maior demanda por parte dos criadores de cavalos de hipismo, além da preocupação de melhoria da qualidade genética dos animais. Muito embora a performance de congelamento de sêmen equino, tenha sofrido significativos avanços nos últimos anos, ainda verificou-se nessa pesquisa, que as IAs processadas com sêmen congelado, geraram menor número de embriões ( $p < 0,05$ ) do que com o sêmen a fresco e com o refrigerado, sinalizando ainda a necessidade de busca de conhecimentos mais aprofundados, para congelar a célula espermática, de modo a aproximar-se dos índices de prenhez ao se empregar o sêmen a fresco e o refrigerado, corroborando relatos de Brinsko e Varner (19) e Backman et al. (7) ao citarem que a percentagem de prenhez empregando-se o sêmen congelado, é reduzida e bastante variável, em função da variação dos protocolos de congelamento, ao efeito do garanhão, à diferença da fertilidade das éguas e aos diferentes protocolos de inseminação adotados.

Tabela 1. Taxas de recuperação embrionária de éguas doadoras da Raça Brasileiro de Hipismo, empregando-se a inseminação artificial com sêmen fresco, refrigerado ou congelado, bem como as de embrião, realizadas de 2003 a 2007, em diferentes meses do ano ( $n=662$ ).

Colheitas	Tipo de sêmen empregado nas Inseminações artificiais			Períodos do ano	
	Fresco	Refrigerado	Congelado	Set-Fev	Mar-Ago
com embrião (n, %)	102(62,1) <sup>a</sup>	104(62,2) <sup>a</sup>	171(51,6) <sup>b</sup>	306(58,5)	88(51,1)
sem embrião (n, %)	62(37,8)	63 (37,7)	160 (48,3)	217(41,4)	84(48,8)
Total	164	167	331	523	172

Letras diferentes na mesma linha é significante ( $p < 0,05$ ).

Em função da disponibilidade de um numero significativo de dados sobre colheitas de embrião, dentro e fora da estação reprodutiva, isto é, colheitas levadas a efeito em meses não comuns a essa atividade, resolveu-se discutir esta variável. Foi estabelecida uma comparação de dados obtidos na temporada de monta equina (setembro, outubro, novembro, dezembro, janeiro e fevereiro), com os meses fora da estação reprodutiva que no Hemisfério Sul, engloba os meses de março, abril, maio, junho, julho e agosto. Foram utilizadas 695 colheitas de embrião para esta análise. Segundo a tabela 1, observa-se nitidamente, maior número de colheitas realizadas entre os meses de setembro e fevereiro dos quatro períodos analisados, em função do esperado maior numero de TEs dentro da estação de monta, confirmando dados de Arruda (20), de Ginther et al. (17) e de Daels (14) de que as éguas são classificadas como poliétricas estacionais, por ciclarem dentro da estação reprodutiva (primavera e verão). Porém, não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os índices de recuperação embrionária, ou seja na taxa de prenhez entre os dois períodos. Éguas que ciclaram fora da temporada de monta proporcionaram índice de recuperação embrionária, muito próximo ao das colheitas executadas dentro da estação reprodutiva. Saliente-se que esses dados são muito importantes, pois não é usual executar-se a TE fora da estação de monta no Brasil, dados esses sugestivos de que é possível trabalhar com a TE, nos meses de outono e inverno, gerando substanciais lucros aos criadores de equinos de elevada performance. Isso vem corroborar relatos de profissionais que trabalham comercialmente em Central de Reprodução Equina, de que é possível, produzir embriões, mesmo fora da estação reprodutiva. Ao se tratar de reprodução, sabe-se que o hipotálamo equino é sensível à luz. No caso da presente pesquisa, os animais estavam em criações correspondentes à altura do paralelo 24, onde a quantidade de horas de luz natural/dia é maior, sinalizando que a latitude poderia exercer função importante sobre esse fato, uma vez que a medida em que a latitude é menor, haverá mais horas de luz por dia,

favorecendo à ciclicidade sexual dos animais, principalmente ao se associar adequada nutrição a eles. Segundo Duarte (2009)<sup>7</sup>, além desses fatos, é possível que, com luz artificial, algumas éguas venham a ciclar, podendo ser aproveitadas num programa de TE, mesmo fora da estação reprodutiva.

Dados relativos à idade embrionária em que as colheitas eram executadas, indicaram o período de 6 a 10 dias após a ovulação das doadoras, com predominância das colheitas efetuadas no 7º, 8º e 9º dias (Tabela 2). Em torno de 92,0 % dos embriões recuperados nas quatro temporadas de monta, encontravam-se com 8 ou 9 dias de idade.

Tabela 2. Taxa de recuperação de embriões eqüinos em doadoras da raça Brasileiro de Hipismo, comparando-se os dias de ovulação (idade embrionária), bem como a incidência de ovulação simples ou múltipla. (2008)

	Dias da ovulação da doadora					Tipo de ovulação	
	D6	D7	D8	D9	D10	Simples (n) (%)	Múltipla (n) (%)
colheita+(n)	2 <sup>a</sup>	14 <sup>b</sup>	189 <sup>b</sup>	181 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	193(47,7) <sup>a</sup>	142(67,9) <sup>b</sup>
(%)	(18,1)	(56,0)	(64,5)	(52,6)	(35,3)		
Colheita-(n)	9	11	104	163	11	211 (52,2)	67 (32,0)
(%)	(81,9)	44,0	35,5	47,4	64,7		
Total	11	25	293	344	17	404	209

Letras diferentes na mesma linha e variável é significante ( $p < 0,01$ )

Pesquisas de Mortensen et al. (21) e Kumar et al. (22), reportaram avanços no percentual da recuperação embrionária, com taxas de 63,0% e de 81,1% respectivamente, porém isto ainda não se observa para éguas superovuladas. Raz, Carley e Card (23) obtiveram apenas 36,0% de embriões recuperados por ovulação em éguas tratadas com FSH-e. Mais recentemente Raz et al. (11), tiveram sucesso em 73 % de taxa de recuperação embrionária em estudo sobre TE. Por sua vez Goretti et al. (12), em estudo executado em Minas Gerais com éguas da raça Manglarga e Campolina, obtiveram taxa de recuperação de até 80%. Araújo et al. (24) realizando um ajuste na dose e na frequência de administração do FSH-e, juntamente com a seleção de animais e baseando-se na população folicular, relataram ser possível induzir e recuperar ovulações duplas e triplas, a um custo inferior aos protocolos superovulatórios convencionais. Essa sistemática de distribuição adotada pelos profissionais da Central de Reprodução de onde foram colhidos os dados, justifica-se pelo fato de que nessa idade o embrião é facilmente visualizado a olho nú, no fundo do filtro coletor embrionário imerso no líquido de lavagem, agilizando o procedimento da colheitas, identificação e transferência, de acordo com Fleury e Alvarenga (13), Silva (25) e Cuervo-Arango (6).

Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre as colheitas feitas no 7º, 8º e 9º dia pós-ovulação. Porém, entre as coletas feitas no 6º e no 10º dia pós ovulação, houve diferença significativa em relação aos outros dias mencionados (Tabela 2), resultando em menores índices de recuperação embrionária, dados esses bastante similares aos relatados por Iuliano (26), Iuliano et al. (27), Mckinnon, Squires e Voss (28) e por Silva (25). Squires, Mccue e Vanderwall (5) e Daels (14) relataram que colheitas realizadas seis dias após a ovulação, geralmente proporcionam resultados ligeiramente inferiores aos embriões de sete ou mais dias, mas tornam-se necessárias, quando se deseja congelar os embriões, em função da sua maior viabilidade após a congelação e descongelação. Iuliano (26) e Iuliano et al. (27) igualmente obtiveram taxa de recuperação embrionária em equinos menor no 6º dia pós-ovulação (66,0%) do que no dia oito (82,0%). Fleury e Alvarenga (13) e Fleury et al. (29) trabalhando em um programa comercial de TE em eqüinos no Brasil, com grande número de colheitas,

<sup>7</sup>Duarte MP. 2009. Centro Comercial de Reprodução Equina, Itapetininga (SP) - Comunicação oral.

Camargo CE. et al. Aspectos relacionados com a recuperação embrionária em éguas da raça Brasileiro de Hipismo, utilizadas em programa comercial de transferência de embrião. Vet. e Zootec. 2013 mar.; 20(4): 74-83.

reforçam os dados do presente trabalho, ao não verificarem diferenças significativas na recuperação embrionária nos dias sete, oito e nove pós-ovulação (49,3 58,0 e 54,5%), respectivamente.

Dos dados ainda disponíveis verificou-se o tipo de ovulação das doadoras, isto é, se a ovulação era simples ou múltipla. A figura 1 revela o número de ciclos reprodutivos que apresentaram ovulações simples ou múltiplas. De um total de 613 ciclos reprodutivos com ovulação, em 209 (34,0%) houve dupla ou mais ovulações. Esse valor é muito próximo ao encontrado por Davies Morel, Newcombe e Swindlehurst (30), que avaliando 3075 ovulações de 2112 ciclos reprodutivos, encontraram 70,7% de ovulações simples e 29,3% de ovulações múltiplas, diferindo dos relatos de Sertich (31) e dos de Carmo et al. (9), os quais descreveram a incidência de múltiplas ovulações em éguas de raças européias de 55,9%, e 53,0 % respectivamente, percentuais esses bastante superiores aos da presente pesquisa, ainda mais ao se levar em consideração de que a raça Brasileiro de Hipismo carrega em sua genética significativo percentual de genética européia. Tal diferença poderia ser sustentada em função de que os dados do presente trabalho foram colhidos de um Centro Comercial de Reprodução Equina, receptor de animais reprodutivamente sadios e problemáticos e não simplesmente de um criatório de eqüinos onde sabidamente as éguas são geralmente férteis.

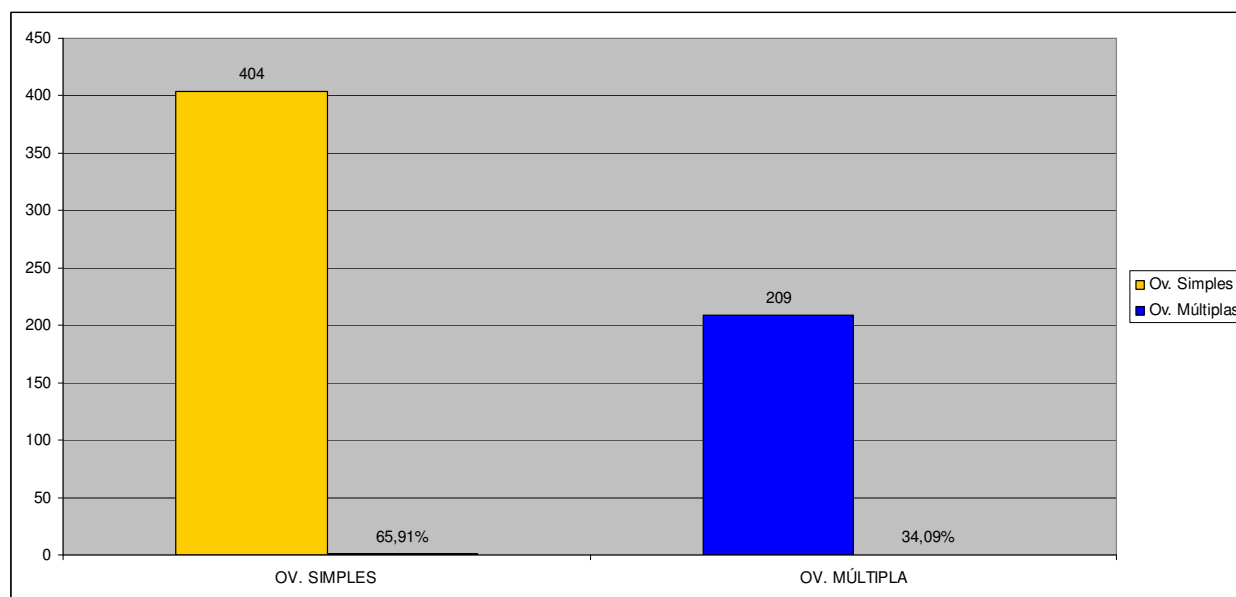


Figura 1. Incidência (%) de ciclos reprodutivos em éguas da raça Brasileiro de Hipismo, detentoras de ovulação simples ou múltipla. (n= 613).

A tabela 2 e a figura 1, mostra a existência de diferença ( $p < 0,05$ ) entre animais que tiveram ovulação simples ou múltipla, revelando que éguas com múltipla ovulação detém taxa de recuperação embrionária superior às de ovulação simples. Alvarenga, Maccue e Bruemmer (32) e Carmo et al. (9) afirmam que o aumento do número de ovulações é altamente desejável e elevam o percentual de embriões recuperados por éguas doadoras de embriões na TE. Contudo, é muito pertinente a preocupação alusiva ao manejo reprodutivo, pois, gestações gemelares são absolutamente indesejáveis na espécie eqüina. Esses mesmos autores avaliaram 829 ciclos reprodutivos de éguas da raça Brasileiro de Hipismo, detectando 390, 360 e 79 ciclos com ovulação simples, dupla e tripla, respectivamente, totalizando 617 embriões recuperados, sendo 230, 306 e 81 embriões provenientes de ovulações simples, duplas e triplas respectivamente, perfazendo, portanto 53,0 % de ovulações múltiplas.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que: o emprego de sêmen congelado, visando a TE em equinos de hipismo, cresceu nos anos analisados; as taxas de recuperação embrionária com sêmen congelado, ainda são menores que as com sêmen a fresco ou refrigerado; é possível produzir embriões fora da estação reprodutiva em éguas, desde que haja ciclos ativos nos meses críticos do ano; não houve diferença nas taxas de recuperação embrionária entre os dias 7, 8 e 9 pós ovulação da doadora, mas ocorreu diferença entre os dias 7, 8 e 9 ( $p < 0,01$ ) ao se comparar com o 6° e o 10° dia, assim como entre a ovulação simples e múltipla em prol da última ( $p < 0,01$ ).

## REFERÊNCIAS

1. Carneiro GF. Transferência de embriões em equinos. In: Anais do 16° Congresso Brasileiro de Reprodução Animal; 2005, Goiânia. Goiânia: CBRA; 2005.
2. Merkt H, Klug E, Jochle W. Reproduction management in the german thoroughbred breeding industry. *J Equine Vet Sci.* 2000;20:231-9.
3. Lopes EP. Desmistificando a transferência de embriões. *Top 2000 Mangalarga Marchador.* 2002;1:6.
4. Squires EL, Carnevale EM, Mccue PM. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology.* 2003;59:151-70.
5. Squires EL, Mccue PM, Vanderwall D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology.* 1999;51:91-104.
6. Cuervo-Arango J. Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound. *Theriogenology.* 2009;71:1267-75.
7. Backman T, Bruemmer JE, Grahan JK, Squires EL. Pregnancy rates of mares inseminated with semen cooled for 18 hours and then frozen. *J Anim Sci.* 2004;82:690-4.
8. Squires EL, McClain MG, Ginther OJ, Mckinnon AO. Spontaneous multiple ovulation in the mare and its effect on the incidence of twin embryo collections. *Theriogenology.* 1987;28:609-13.
9. Carmo MT, Trinke CLN, Lima MM, Medeiros ASL, Alvarenga MA. Estudo da incidência de múltiplas ovulações em éguas da raça Brasileiro de Hipismo e suas implicações em um programa de transferência de embriões. *Rev Bras Reprod Anim.* 2002;26:252-4.
10. Losinno L, Aguilar JJ, Lisa H. Impact of multiple ovulation in a commercial equine embryo transfer program. In: *Proceedings of the 5th International Symposium on Equine Embryo Transfer; 2000, Saari. Saari, Finland: Havemeyer Foundation Monograph Series; 2000. n.3, p.81-3.*
11. Raz T, Carley SD, Green JM, Card CE. Evaluation of two oestrus synchronization regimens in eFSH-treated donor mares. *Vet J.* 2011;188:105-9.



12. Goretti RG, Araújo RR, Rocha Filho AN, Araújo GHM, Lopes EP. Effects of timing of induced luteolysis in embryo donor mares on reproductive performance and pregnancy rate in recipient mares. *Theriogenology*. 2011;75:1170-4.
13. Fleury JJ, Alvarenga MA. Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. *Theriogenology*. 1999;51:261-2.
14. Daels P. Embryo transfer tips and tricks. *Proceedings of the 5th European Veterinary Conference; 2007, Voorjaarsdagen. Voorjaarsdagen, Amsterdam: IVIS; 2007. p.213-5.*
15. Sirois J, Ball BA, Fortune JE. Patterns of growth and regression of ovarian follicles during the estrous cycle and after hemiovariectomy in mares. *Equine Vet J*. 1987;9 Suppl:43-8.
16. Squires EL. Embryo transfer. In: Mckinnon AO, Voss JL. *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p.357-67.
17. Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA. Seasonal influence on equine follicle dynamics. *Anim Reprod*. 2004;1:31-44.
18. Saltiel A, Calderon A, Garcia N, Hurley DP. Ovarian activity in the mare between latitude 15 and 22 N. *J Reprod Fertil*. 1982;32:261-7.
19. Brinsko SP, Varner DD. Artificial insemination. In: Mckinnon AO, Voss JL. *Equine reproduction*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1992. p.790-7.
20. Arruda RP. Manejo reprodutivo das fêmeas equinas. In: *Anais da 13ª Semana de Zootecnia; 1990, Pirassununga. Campinas: Fundação Cargill; 1990. p.126.*
21. Mortensen CJ, Choi YH, Hinrichs K, Ing NH, Kraemer DC, Vogelsang SG. Embryo recovery from exercised mares. *Anim Reprod Sci*. 2009;110:237-44.
22. Kumar D, Jhamb D, Kumar N, Badial D. Foals born through fresh embryo transfer in India. In: *Proceedings of 10th International Congress of World Equine Veterinary Association; 2008, Moscow. Moscow, Russia: IVIS; 2008. p.567-8.*
23. Raz T, Carley S, Card C. Comparison of the effects of eFSH and deslorelin treatment regimes on ovarian stimulation and embryo production of donor mares in early vernal transition *Theriogenology*. 2009;71:1358-66.
24. Araujo GHM, Rocha Filho AN, Lopes EP, Moya CF, Alvarenga MA. Use of a low dose to equine purified FSH to induce multiple ovulations in mares. *Reprod Domest Anim*. 2009;44:380-3.
25. Silva LA. Técnica ultra-sonográfica de injeção intrauterina para transferência de embriões em equinos [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2003.
26. Iuliano MF. The effect of age of the equine embryo and method of transfer on pregnancy rate [thesis]. Fort Collins: Colorado State University; 1983.

27. Iulano MF, Squires EL, Cook VM. Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. *J Anim Sci.*1985;60:258-63.
28. Mckinnon AO, Squires EL, Voss JL. Ultrasonic evaluation of the mare's reproductive tract. Part II. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1987;9:472-82.
29. Fleury JJ, Pinto AJ, Marques A, Lima CG, Arruda RP. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2001;38:29-33.
30. Davies Morel MCG, Newcombe JR, Swindlehurst JC. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology.* 2005;63:2482-93.
31. Sertich PL. Transcervical embryo transfer in performance mares. *J Am Vet Med Assoc.*1989;195:940-4.
32. Alvarenga MA, Mccue PM, Bruemmer J. Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily. *Theriogenology.* 2001;56:879-87.

**Recebido em: 28/08/09**

**Aceito em: 25/05/12**