

SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS NO DIESTRO PARA UTILIZAÇÃO EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS

Renata Tenório Ribeiro de Souza¹
João Guilherme de Góis Fontes²
Mariana Furtado Zorzetto³
Adelcio Barbosa da Silva Júnior⁴
Frederico Ozanam Papa⁵
Marco Antônio Alvarenga⁵
José Antônio Dell'aqua Júnior⁵

RESUMO

Um dos grandes problemas da técnica de transferência de embriões continua sendo a seleção de éguas aptas para serem utilizadas como receptoras de embrião e aumentar o seu período de utilização é sempre um desafio. A utilização de receptoras acíclicas sincronizadas pela reposição hormonal apresenta taxas de gestação similares a receptoras ciclantes. O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito da utilização do estrógeno e progesterona em receptoras de embrião na fase de diestro. Foram utilizadas 60 éguas divididas em três grupos experimentais, sendo grupo controle, grupo acíclicas preparadas com a administração de 20mg de 17 β estradiol e 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta e o grupo diestro receptoras entre o D8 e D14 do ciclo estral (diestro) preparadas com a administração de 50mg de 17 β estradiol e 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta. Foi avaliada a porcentagem de prenhez e valor médio e desvio padrão do grau máximo de edema uterino de receptoras que ficaram prenhes ou ficaram vazias nos diferentes grupos, porcentagem de receptoras do grupo diestro que apresentaram grau de edema uterino e taxa de prenhez em relação ao grau de edema, média e desvio padrão do grau de edema uterino e número de animais em relação ao dia do início do protocolo e respectiva taxa de prenhez das éguas do grupo diestro. Os dois protocolos de sincronização no grupo controle e grupo acíclicas com 80% de prenhez foram eficazes para a preparação de éguas como receptoras de embrião. O protocolo utilizado no grupo diestro obteve a taxa de gestação de 40% podendo ser uma alternativa estratégica em um programa de TE, desde que a receptora se encontre após o D10 do diestro e apresente grau de edema uterino superior a 2, após a aplicação do 17 β estradiol.

Palavras-chave: diestro, estradiol, progesterona, sincronização, transferência de embrião.

¹ Mestranda em Reprodução Animal pelo Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior, s/n, CEP: 18618-000, Botucatu-SP. renatatenorioo@hotmail.com.br; (79) 3211 7429

² Mestre em Alimentação e Nutrição de Ruminantes. Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão - SE

³ Doutoranda em Reprodução Animal pelo Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista.

⁴ Médico Veterinário responsável pela D.A. Vida Equine Reproduction, Aracaju- SE

⁵ Professor do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da FMVZ-UNESP-Botucatu.

SYNCHRONIZATION OF ESTRUS IN THE RECIPIENT FOR USE IN PROGRAM EMBRYO TRANSFER IN HORSES

ABSTRACT

A major problem of the technique of embryo transfer remains the selection of suitable mares to be used as embryo recipients and increase their usage period is always a challenge. Knowing that the use of acyclic receptor synchronized by hormone replacement shows pregnancy rates similar to receiving cyclic mares. The aim of this work was to study the effect of the use of estrogen and progesterone receptors in embryo at the stage of estrus. 60 mares were used divided into three experimental groups and control group, acyclic prepared with the administration of 20 mg of 17 β estradiol and 3g of natural progesterone injection in vehicle slow release and the group receiving diestrus between D8 and D14 of the estrous cycle (diestrus) prepared by administering 50 mg of estradiol, and 17 β 3g natural progesterone injection in slow release vehicle. Being evaluated pregnancy rate and mean value and standard deviation of the maximum degree of uterine edema of recipients who were pregnant or became empty in the different groups, the percentage of recipients diestrus group that showed uterine edema and pregnancy rate in relation to the degree of edema, mean and standard deviation of the degree of uterine edema and numbers of animals in relation to the day of the beginning of the protocol and rate of pregnancy in mares group diestrus. The two synchronization protocols in the control group and acyclic group with 80% pregnancy were effective for the preparation of mares as embryo recipients. The protocol used in diestrus group obtained pregnancy rate of 40% could be an alternative strategy in a program TE, provided the receptor is found after D10 diestrus and present uterine edema grade greater than 2, after application 17 β estradiol.

Keywords: diestrus, embryo transfer, estradiol, progesterone, synchronization.

LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN EL RECEPTOR PARA SU USO EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES PROGRAMA EN CABALLOS

RESUMEN

Un problema importante de la técnica de transferencia de embriones sigue siendo la selección de yeguas adecuadas para que puedan ser utilizadas como receptoras de embriones y aumentar su periodo de uso es siempre un desafío. Sabiendo que el uso del receptor acíclico sincronizado por reemplazo hormonal muestra las tasas de embarazo similares a recibir ciclistas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la utilización de los receptores de estrógeno y progesterona en embrión en la fase de estro. 60 yeguas que se dividieron en tres grupos experimentales y el grupo de control, acíclicos preparado con la administración de 20 mg de 17 β estradiol y 3 g de inyección de progesterona natural en el vehículo de liberación lenta y el grupo que recibió el diestro entre D8 y D14 del ciclo estral (diestro) preparado por la administración de 50 mg de estradiol y 17 de inyección de progesterona natural 3g β en un vehículo de liberación lenta. Siendo evaluada tasa de embarazo y el valor y la desviación estándar del máximo grado de edema uterino de las receptoras que estaban embarazadas o se convirtieron en vacío en los diferentes grupos de media, el porcentaje de receptoras grupo diestro que mostró edema uterino y la tasa de embarazo en relación con el grado edema, media y desviación estándar del grado de edema uterino y el número de animales en relación con el día del comienzo del protocolo y la velocidad de la gestación en yeguas diestro grupo. Los dos protocolos de sincronización en el grupo control y el grupo acíclico con 80% de

embarazo fueron eficaces para la preparación de yeguas como receptoras de embriones. El protocolo utilizado en el grupo diestro obtuvo tasa de embarazo del 40% podría ser una estrategia alternativa en un programa de TE, siempre y cuando la receptora se encuentre después de D10 diestro y presente edema uterino de grado mayor que 2, después de la aplicación 17 β estradiol.

Palabras clave: diestro, estradiol, progesterona, sincronización, transferencia de embriones.

INTRODUÇÃO

É notório o crescimento e desenvolvimento do mercado de equinos no país. A busca por melhores resultados de fertilidade na espécie vem aumentando assim como interesse pela técnica de transferência de embriões (TE).

A seleção de éguas aptas a serem utilizadas como receptoras continua sendo o maior problema em um programa de TE (DOWSETT e WOODWARD; 1989). Aumentar o período útil de utilização de receptoras é sempre um desafio que possibilita recompensa na redução de custos da técnica de TE (JASKO, 2002).

A relação ideal de 1:1 (para cada doadora uma receptora) se mostra como uma interessante alternativa para o melhor aproveitamento das éguas receptoras diminuindo os altos valores da transferência de embriões possibilitando a técnica se difundir mais rapidamente (CAIADO, 2007).

A utilização de receptoras acíclicas sincronizadas pela reposição hormonal apresentam taxas de gestação similares a receptoras ciclantes (DELL'AQUA JR. et al., 2009).

A égua ciclante se encontra apta a receber um embrião até o nono dia após sua ovulação, assim sendo, para a receptora estar apta novamente para uma TE, seria necessário mais oito a dez dias em média para ela ovular (após aplicação de luteolítico) e no mínimo mais 3 ou 4 após a ovulação para apresentar condição uterina adequada para ser utilizada como receptora. Desta forma, são 12 a 15 dias em que a receptora fica indisponível no lote. A diminuição desse intervalo pode ser uma alternativa para minimizar os custos inerentes à manutenção das receptoras.

Em virtude disso, o presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito da utilização do estrógeno e progesterona em receptoras de embrião na fase de diestro.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da Pesquisa

O experimento foi conduzido durante a estação reprodutiva 2012/2013, junto a Central de Reprodução Equina - D.A. Vida Equine Reproduction, localizada no Haras Fábio José, Lagarto-SE, latitude -10°55'02'' e longitude -37° 39'00''.

Animais e Divisão dos Grupos Experimentais

Foi utilizado um total de 60 éguas mestiças como receptoras com idade entre 4 e 10 anos, escore corporal classificado em bom e regular, não possuindo quaisquer anormalidades no trato reprodutivo que pudessem ser detectadas por exame de palpação retal, citologia uterina ou ultrassonografia transretal. Destas, 40 éguas estavam em plena atividade reprodutiva e 20 em anestro. Seis garanhões com fertilidade comprovada foram utilizados como doadores de sêmen para a realização das inseminações de 15 éguas puras da raça Quarto de Milha entre 6 e 12 anos, utilizadas como doadoras para obtenção dos embriões.

Todos os animais eram mantidos em sistema de confinamento com acesso a água, silagem de milho e sal mineral à vontade, tendo sua alimentação complementada com ração comercial peletizada.

Grupos experimentais:

Todas as éguas tiveram seu ciclo estral acompanhado por palpação retal e ultrassonografia para determinação da fase estral que se encontravam estro: crescimento folicular e presença de edema uterino avaliado em escore de 0 a 3 sendo 0 ausente e 3 máximo, observação efetuada entre a bifurcação dos cornos uterinos. No diestro: presença do corpo lúteo ou anestro: inatividade ovariana. A ultra-sonografia foi realizada com auxílio de ultra-som Mindrayn 4900, com transdutor de 5 MHZ. Foram testados os seguintes grupos:

Grupo Controle: 20 receptoras cíclicas ovuladas que foram inovuladas entre os dias 3 a 8 do ciclo estral, onde o D0 é o dia da ovulação. Tiveram seu ciclo acompanhado por palpação retal e ultrassonografia. Ao atingirem folículo de aproximadamente 35 mm e presença de edema endometrial mínimo grau 2 foram induzidas com 1,0 mg de acetato de deslorelina I.M.

Grupo Acíclicas: 20 receptoras foram preparadas com a administração de 20mg de 17 β estradiol no dia da ovulação da doadora e dois dias após, o escore do edema uterino era avaliado e então recebiam uma administração de 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta, e foram inovuladas entre os dias 3 a 8 a partir da aplicação da progesterona.

Grupo Cíclicas em Diestro: 20 receptoras cíclicas entre o D8 e o D14 do ciclo estral (Diestro), foram preparadas com a administração de 50mg de 17 β estradiol no dia da ovulação da doadora e dois dias após, o escore do edema uterino era avaliado e então recebiam uma administração de 3g de progesterona natural injetável em veículo de liberação lenta, e foram inovuladas entre os dias 3 a 8 a partir da aplicação da progesterona.

Delineamento Experimental

Produção dos embriões

A colheita do sêmen foi realizada com auxílio de uma vagina artificial, o ejaculado filtrado, os parâmetros espermáticos aferidos e o sêmen diluído na proporção de 1:1 com extensor a base de leite desnatado (Botu-Sêmen[®]). Após 24 horas da indução da ovulação as éguas foram inseminadas com 1×10^9 de espermatozoides moveis. A colheita dos embriões foi realizada no oitavo dia pós ovulação realizada com auxílio de uma sonda de Foley modelo Bivona[®] (Bivona Medical Technologies, Gary, IN, EUA) acoplada a um frasco de Ringer com Lactato de Sódio (J.P. Indústria Farmacêutica – Ribeirão Preto- SP). Sendo realizados três lavados uterinos de um litro/lavado para recuperação do embrião.

Os embriões obtidos foram classificados em escala de 1 a 5, de acordo com McKinnon e Squires (1988), em excelentes, bons, regulares, ruins e ovócitos não fecundados com auxílio de microscópio esterioscópico. Apenas os embriões considerados excelentes e bons foram transferidos.

Diagnóstico de Gestação

Quatro a seis dias após a inovulação foi efetuado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia. Nos grupos das éguas acíclicas e cíclicas em diestro na confirmação da prenhez foi administrado mais uma aplicação de 3g de progesterona natural injetável em

veículo de liberação lenta, e reaplicações a cada 14 dias até os 110 dias de gestação para manutenção da gestação.

Análise Estatística

Para análise das porcentagens de gestação entre os grupos estudados foi utilizado o teste de Fisher, e o teste de ANOVA seguido pelo teste de Tukey para as demais variáveis. A incidência do edema uterino em relação ao dia do início do tratamento no grupo de animais do diestro foi obitido pelo boxplot gerado pelo programa estatístico R. Todas as estatísticas efetuadas foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Em relação à taxa de prenhez observada após a inovulação nos diferentes grupos estudados foi verificado que os grupos controle e de receptoras acíclicas apresentaram valores similares e significativamente maiores aos do grupo de éguas em diestro. O mesmo padrão estatístico também foi encontrado em relação ao grau máximo de edema uterino das receptoras que se tornaram prenhes após a inovulação ou ficaram vazias, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem de prenhez e valor médio e desvio padrão do grau máximo de edema de receptoras que se tornaram prenhes ou ficaram vazias nos diferentes grupos de receptoras controle, acíclicas e diestro.

	Grupo Controle	Grupo Acíclicas	Grupo Diestro	Valor de p
Taxa de Prenhez	16/20 (80%) ^a	16/20 (80%) ^a	8/20 (40%) ^b	p=0,02
Edema Prenhes	3±0 ^a	3±0 ^a	2,7±0,4 ^b	p=0,004
Edema Vazias	3±0 ^a	3±0 ^a	0,2±0,8 ^b	p=0,0001

^aEdema uterino avaliado em escore (0-3), sendo 0 ausente e 3 máximo.

^{ab}Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

No grupo experimental efetuado durante o diestro foi observado grande influência da taxa de gestação sobre a quantidade de edema uterino observado antes da administração da progesterona. Esse fato pode ser visualizado na tabela 2, onde 60% das éguas que apresentaram edema uterino graus 0 e 1, nenhuma se tornou gestante após a inovulação, já os outros 40% que apresentaram edema uterino graus 2 e 3 no mesmo período, todos 100% mantiveram a prenhez.

Tabela 2. Porcentagem de receptoras do grupo em diestro que apresentaram grau de edema uterino entre 0 e 1 ou 2 e 3 e taxa de prenhez em relação ao grau de edema.

Grau Edema Uterino	% Receptoras	Taxa de prenhez
0-1	(12/20) 60% ^a	(0/12) 0% ^a
2-3	(8/20) 40% ^a	(8/8) 100% ^b

^aEdema uterino avaliado em escore (0-3), sendo 0 ausente e 3 máximo.

^{ab}Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

O grau de edema uterino apresentou grande variação no grupo dos animais em diestro após a aplicação do 17 β estradiol, esse fato contribuiu na obtenção de diferentes taxas de

preñez em relação ao dia do início do tratamento e ao grau de edema uterino promovido, dados visualizados na tabela 3. A concentração dos maiores índices de edema uterino nesse grupo foi evidenciada a partir do D10 e se mostrou mais constante ao se aproximar do D14, dados demonstrados na Figura 1.

Tabela 3. Média e desvio padrão do grau de edema uterino e números de animais em relação ao dia do início do protocolo e respectiva taxa de prenhez das éguas receptoras do grupo em diestro.

Início do protocolo	n	Edema uterino	Taxa de Prenhez (%)
D8	2	0±0	(0/2) 0
D9	5	0,4±0,5	(0/5) 0
D10	8	1,7±1,5	(5/8) 62,5
D11	0	----	----
D12	4	1,5±0,7	(2/4) 50,0
D13	0	----	----
D14	1	3±0	(1/1) 100

*Edema uterino avaliado em escore (0-3), sendo 0 ausente e 3 máximo.

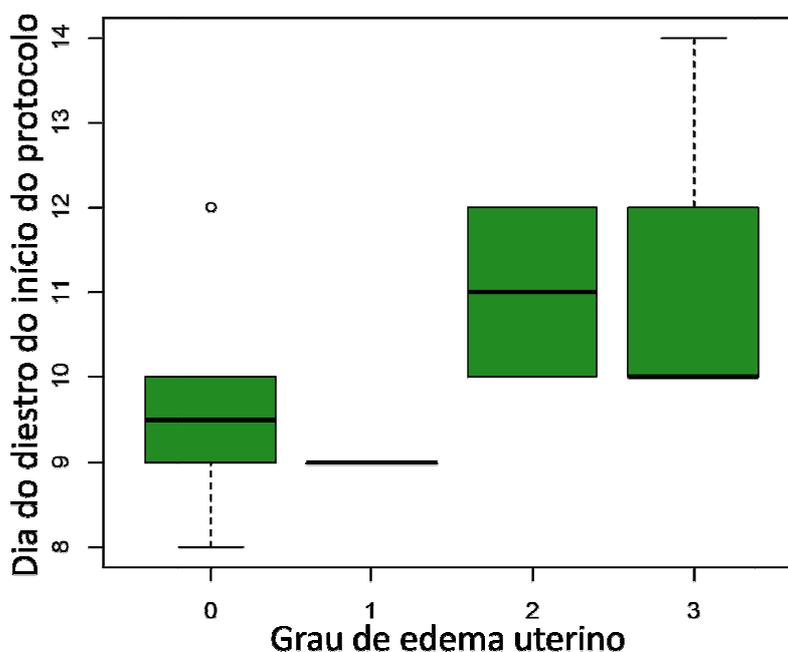


Figura 1. Gráfico ilustrativo da incidência de edema uterino em relação ao dia do início do tratamento no grupo de animais em diestro.

DISCUSSÃO

O presente trabalho utilizou a técnica não cirúrgica e teve índice de aproximadamente 62% de taxa de prenhez, valores superiores aos encontrados por Squires et al. (1982) e Iuliano et al. (1985) ambos de 46% demonstrando assim o aprimoramento da técnica de transferência não cirúrgica que devido a sua simplicidade se tornou o método mais utilizado na TE (HINRICHS, 1993).

Na nossa pesquisa foram comparados protocolos de sincronização de receptoras de embriões equinos para maximizar seu aproveitamento. Tendo como resultado de 80% na taxa de prenhez no grupo controle e no grupo anestro, já no grupo de receptoras no diestro tratadas a taxa de prenhez foi de 40%. Esses dados corroboram com os achados de Rocha Filho et al.

(2004), Carnevale et al. (2005), Stout et al. (2006), Caiado et al. (2007), Kaercher et al. (2011), que também não observaram diferença estatística entre o grupo ciclante e o grupo em anestro, sendo uma possibilidade já colocada em prática por muitos médicos veterinários.

Como normalmente as éguas durante o período de diestro a partir do dia 8 permanecem sem utilidade reprodutiva até o próximo ciclo, o uso desse protocolo nos traz uma nova perspectiva para estes animais, tornando-os uma boa alternativa quando há poucas éguas receptoras disponíveis, confirmando assim uma boa alternativa de sincronização de receptoras de embriões, porém necessitando de mais pesquisas com a utilização deste protocolo, não deixando de considerar o resultado de 40% encontrado na pesquisa, pois estas receptoras não teriam como ser utilizadas mais rapidamente aguardando assim um novo ciclo estral.

A utilização de estrógeno e a avaliação do edema uterino após a aplicação se faz necessária, já que a elevação dos níveis de estrógenos durante a fase estral é responsável pela instalação do edema uterino (MCKINNON & CARNEVALE, 1993; BURATINI, 1997; MACHADO, 2004). Esse fato pode ser evidenciado, haja vista que a maioria dos animais que se tornaram prenhes no grupo iniciado no diestro apresentavam edema uterino 2 ou 3.

Foi observado que o edema uterino promoveu uma modificação do ambiente uterino que se mostrou fundamental para obtenção de resultados satisfatórios no grupo de diestro, pois 40% das éguas que foram utilizadas no protocolo, demonstraram edema de graus 2 e 3, e apresentaram 100% de prenhez, o mesmo não foi evidenciado em 60% das éguas desse grupo, pois provavelmente até aproximadamente o décimo dia do diestro os receptores para ligação do 17β estradiol não estão ativos, já que nesse período o grau de edema uterino gerado foi baixo ou ausente culminando com taxas de prenhez embrionária deficiente.

Uma alternativa interessante a ser testada nessa fase seria aplicação de um agente luteolítico, que possivelmente possa contribuir com a queda aguda da P4 e conseqüentemente ativar os receptores estrogênicos, pois segundo Allen, (2001), os efeitos da progesterona sobre as características morfológicas da cérvix e útero são eficazes somente após efeitos estrogênicos. De acordo com Hughes *et al.*, (1972) na fase do estro, a presença do estradiol é o principal hormônio ovariano produzido, sendo o responsável pelo aparecimento de edema e tônus uterino característicos, criando também receptores para progesterona e preparando o endométrio para uma possível gestação.

O edema uterino pelo efeito do estrógeno só se faz necessário antes da aplicação da progesterona, pesquisadores afirmam que éguas receptoras de embriões que apresentam edema endometrial no quinto dia pós-ovulação não devem ser utilizadas neste ciclo (SQUIRES et al, 2003; SQUIRES; MCCUE; VANDERWALL, 1999). Samper (1997) afirma que o edema uterino é um indicador confiável da competência estrogênica do folículo dominante.

O efeito da progesterona em resposta ao edema uterino provocado pelo estrógeno, no qual a presença do edema durante o período inicial de gestação reflete uma baixa produção de progesterona (PELEHACH et al. 2002). Segundo Hayes et al. (1985), baixas concentrações de estrógeno tem maior importância do que altas concentrações de progesterona no desenvolvimento do endométrio homogêneo característico do diestro.

O fato de que os animais que estavam em uma fase do diestro mais tardia após o D10 apresentaram uma boa manifestação de edema uterino e conseqüentemente altas taxas de prenhez, apresentaram uma nova opção de utilização nos programas de TE.

CONCLUSÃO

O protocolo utilizado no grupo em diestro pode ser uma alternativa estratégica em programas de TE, desde que a receptora se encontre após o D10 do diestro e apresente grau de edema uterino superior a 2 após a aplicação do 17β estradiol.

REFÊRENCIAS

1. Allen WR. Luteal deficiency and mortality in the mare. *Rep Dom Anim.* 2001;36:121-31.
2. Buratini Jr J. Avaliação da dinâmica folicular em éguas da raça Mangalarga Marchador utilizando ultrasonografia e as concentrações plasmáticas de Progesterona e hormônios Luteinizante [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 1997. p. 27-39.
3. Caiado JR, Fonseca FA, Silva JFS, Fontes RS. Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. *Rev Bras Zootec.* 2007;36:360-8.
4. Carnevale EM, Coutinho da Silva MA, Panzani D, Stokes JE, Squires EL. Factors affecting the success of oocyte transfer in clinical program for subfertile mares. *Theriogenology.* 2005;64:519-27.
5. Dell'Aqua JA, Chaves MMC, Medeiros ASL, Dell'aqua CPF, Papa FO, Alvarenga MA. Use of a new formulation of long acting progesterone in non cycling recipient mares [Internet]. São Paulo: ABRAVEQ - Associação Brasileira de Veterinários de Equídeos; 2009 [cited 2015 Abr 14]. Weva, 321. Available from: <http://www.itarget.com.br/newclients/abraveq2012/?p=2103>
6. Dowsett MA, Woodward RA, Bodero DA. A study of nonsurgical embryo transfer in the mare. *Theriogenology.* 1989;31:631-42.
7. Hayes KEN, Pierson RA. Effects of estrus cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. *Theriogenology.* 1985;24:465-77.
8. Hinrichs K. Embryo transfer in the mare: a status report. *Anim Reprod Sci.* 1993;33:227-40.
9. Hughes JP, Stabenfeldt DH, Evans JW. Clinical and endocrine aspects of the estrous cycle of the mare. In: *Proceedings of the 18th Annual Conference of the American Association of Equine Practitioners; 1972 Dec 4-6; San Francisco, CA.* p. 119-52.
10. Iuliano 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.
11. Kaercher F, Siqueira M, Mercadante A, Figueiredo T, Weiss RR, Siqueira F, et al. Embryo transfer in non cycling Crioula and Quarter horse breeds treated with estradiol cypionate and long-acting progesterone. *Braz Arch Biol Technol.* 2011;54:1147-50.
12. Jasko DJ. Comparison of pregnancy rates following nonsurgical transfer of day 8 equine embryos using various transfer devices. *Theriogenology.* 2002;58:713-5.
13. Machado MS. Avaliação da dinâmica folicular em éguas superovuladas com extrato de pituitária equina e FSH equino purificado [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2004.
14. McKinnon AO, Carnevale EM. Ultrasonography. In: *McKinnon AO. Equine Reproduction.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p. 211-20.

15. Mckinnon AO, Squires EL. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. *Theriogenology*. 1988;29:1055-63.
16. Pelehach LM, Greaves HE, Porter MB, Desvougiers A. The role of estrogen and progesterone in the induction and dissipation of uterine edema in mares. *Theriogenology*. 2002;58:441-4.
17. Rocha Filho NA, Pessôa MA, Gioso MM, Alvarenga MA. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. *Anim Reprod Sci*. 2004;1:91-5.
18. Samper JC. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. *Proc Am Assoc Equine Pract*. 1997;43:189-91.
19. Squire, EL, Carnevale EM, Mccue PM, Bruemmer JE. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*. 2003;59:151-70.
20. Squires EL, Mccue PM, Vanderwall D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*. 1999;51:91-104.
21. Squires EL, Iuliano MF, Shideler RK. Factores affecting the sucess of surgical and nonsurgical equine embryo transfer. *Theriogenology*. 1982 ;17:35-41.
22. Stout TAE. Equine embryo transfer : review of developing potential. *Equine Vet J*. 2006;38:467-78.

Recebido em: 26/08/2013

Aceito em: 10/04/2015