

CORRELAÇÃO DOS FATORES QUE INTERFEREM NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES*

Edílson de Paula Lopes¹, Rogério Oliveira Pinho², Jeanne Broch Siqueira³, Alexandre Neves Rocha¹, Jhonata Vieira Tavares do Nascimento Pereira⁴⁺, Leonardo Franco Martins⁵, Bruna Waddington de Freitas⁴ e José Domingos Guimarães⁶

ABSTRACT. Lopes E. de P., Pinho R.O., Siqueira J.B., Rocha A.N., Pereira J.V.T. do N., Martins L.F., de Freitas B.W. & Guimarães J.D. [**Correlation of factors which affect reproductive efficiency of Mangalarga Marchador mares in embryo transfer programs**]. Correlação dos fatores que interferem na eficiência reprodutiva de éguas Mangalarga Marchador em programas de transferência de embriões. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1):69-75, 2013. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa, MG 36570-000, Brasil. E-mail: jhonatavet@yahoo.com.br

The objective of this study was to verify the relationship of some reproductive features with embryo recovery in donor mares and recipients reproductive in embryo transfer programs. There were used 209 Mangalarga Marchador mares from five to 20 years of age, accompanied during six reproductive seasons, evaluating some reproductive features such as foal heat, embryo age, synchrony between donor and recipient mares, among others. There were 1,140 flushing procedures with 72.8% of recovery rate. Significant correlation was observed only in embryo recovery with the size of the first follicle ($r = 0.08$) and with artificial insemination of the donor in pre-ovulatory phase ($r = 0.11$), beyond the mares status with synchrony between donor and recipient ($r = 0.06$), although the correlation values have been very low. The low correlations obtained between the studied features have small influence over pregnancy rates in an equine embryo transfer program. The adoption of a higher flexibilization in the ovulatory synchronism between donor and recipient mares optimizes the use of recipient mares, thus reducing costs and facilitating management of horse breeding farms.

KEY WORDS. Embryo transfer, mares, reproduction.

RESUMO. O objetivo deste estudo foi verificar a relação de algumas características reprodutivas com a recuperação embrionária em éguas doadoras e status reprodutivo de receptoras em programas de transferência de embriões. Foram utilizadas 209 éguas da raça Mangalarga Marchador, de cinco a

20 anos de idade, acompanhadas durante seis estações reprodutivas, avaliando-se algumas características reprodutivas como utilização do cio do potro, idade do embrião, sincronia entre doadora e receptora, entre outras. Totalizou-se 1140 coletas com recuperação de 72,8%. Foi observada correlação

*Recebido em 22 de março de 2012.

Aceito para publicação em 11 de fevereiro de 2013.

¹ Médico-veterinário Autônomo. Esmeraldas, MG 35740-000, Brasil.

² Médico-veterinário. Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa, MG 36570-000, Brasil.

³ Médica-veterinária, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Espírito Santo, Rua Alto Universitário s/n, Alegre, ES 29500-000, Brasil.

⁴ Médico-veterinário. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, Viçosa, MG 36570-000, Brasil. +Autor para correspondência. E-mail: jhonatavet@yahoo.com.br

⁵ Médico-veterinário. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Paranaense, Rod. PR 480, S/N, Km 14, Umuarama, PR 85903-170, Brasil.

⁶ Médico-veterinário. Coordenador de equipe, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, MG 36570-000.

significativa apenas da recuperação embrionária com o tamanho do primeiro folículo ($r = 0,08$) e com inseminação artificial da doadora na fase pré-ovulatória ($r = 0,11$), além do status da égua com a sincronia entre doadora e receptora ($r = 0,06$), embora os valores de correlação tenham se mostrado muito baixos. As baixas correlações existentes entre as características possuem baixa influência sobre as taxas de prenhez obtidas em um programa de transferência de embriões equinos. A adoção de maior flexibilização na sincronia de ovulação entre doadoras e receptoras proporciona otimização no uso de receptoras, redução de custos e melhorias no manejo das fazendas.

PALAVRAS-CHAVE: Éguas, reprodução, transferência de embriões.

INTRODUÇÃO

Algumas características biológicas peculiares assim como problemas técnicos têm limitado o amplo uso da transferência de embriões (TE) na espécie equina quando comparado com a espécie bovina (Squires et al. 1999).

O sucesso de um programa de TE está intimamente relacionado à taxa de recuperação dos embriões a partir das éguas doadoras. Diversos fatores afetam a recuperação embrionária, dentre eles: número de ovulações (Carmo et al. 2003); dia da coleta do embrião (Fleury & Alvarenga 1999, Squires et al. 1999); égua doadora, além da qualidade do sêmen (Amann & Pickett 1987).

Após duas décadas de pesquisa e desenvolvimento da técnica de TE na espécie equina, não é incomum observar nos dias atuais, taxas de prenhez em programa de TE comparáveis às obtidas por ciclo estral com o uso de monta natural ou inseminação artificial. A taxa de prenhez é influenciada pela idade do embrião, (Squires et al. 1999, Carnevale et al. 2000, Fleury et al. 2002, Squires et al. 2003), sítio de deposição (Carvalho 2001b), método de transferência (Fleury & Alvarenga 1999), égua receptora (Jacob et al. 2002, Squires et al. 2003), qualidade do embrião (Squires 1993), refrigeração e transporte do embrião (Fleury et al. 2002, Squires et al. 2003), o intervalo de parto ao primeiro cio, intervalo de partos e utilização do cio do potro (Carvalho 2001a, Malschitzky et al. 2002).

O presente estudo teve como objetivo verificar a correlação de algumas características reprodutivas com a recuperação embrionária em éguas doadoras e status reprodutivo de receptoras em programas de TE.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados analisados foram obtidos em quatro haras, durante seis estações reprodutivas, nos anos de 1998 a 2004, sempre de agosto a maio: Haras 1, localizado em Resende-RJ, a $22^{\circ}28'08''S$ e $44^{\circ}26'49''W$ (estação 1998/1999); Haras 2, situado em Jequitibá-MG, a $19^{\circ}14'08''S$ e $44^{\circ}01'40''W$ (estações 1999/2000 e 2000/2001); Haras 3, situado em Ponte Nova-MG, a $20^{\circ}24'59''S$ e $42^{\circ}54'31''W$ (estações 2001/2002 e 2002/2003); e Haras 4, situado em Esmeraldas-MG, a $19^{\circ}45'45''S$ e $44^{\circ}18'50''W$ (estação 2003/2004).

Foram utilizadas 209 doadoras, de cinco a 20 anos de idade, mantidas em piquetes gramados (*Cynodon spp.*, *coast-cross*), salvo aqueles animais que estavam em preparação para competições, que permaneciam em baias, com água e sal mineralizado *ad libitum* e fonte de volumoso de capim picado ou feno e suplementadas com ração concentrada duas vezes ao dia, geralmente no curral onde eram levadas para avaliação reprodutiva.

Os exames ultra-sonográficos dos ovários e útero foram realizados com auxílio de aparelhos modelo Vet 200[®] (Pie Medical) ou modelo SD 500[®] (Aloka), acoplados ao transdutor transretal de 5MHz. As éguas foram examinadas em intervalos de dois ou três dias até apresentarem folículo com aproximadamente 30 mm de diâmetro, quando passaram a ser monitoradas diariamente.

As éguas doadoras foram cobertas ou inseminadas a cada 48 horas desde a detecção de folículo ≥ 35 mm até a ovulação. O sêmen foi aspirado em seringa de 20 mL acoplada a uma pipeta de inseminação própria para éguas (Provar[®]) e depositado no corpo ou corno uterino ipsilateral ao ovário que continha o folículo pré-ovulatório. Sêmen *in natura* foi utilizado nas inseminações após diluição em meio à base de leite desnatado quando se tratava de garanhões alojados no próprio haras ou diluído, refrigerado e transportado a aproximadamente $15^{\circ}C$ em caixa de isopor por até 12 horas, quando da utilização de garanhões de outros haras.

As coletas dos embriões foram realizadas de sete a nove dias após a ovulação e somente os embriões grau 1 ou 2 foram inovulados. O meio utilizado para o lavado uterino foi a solução de Ringer com lactato (um a três litros) pré-aquecida a $35^{\circ}C$. Após visualização do embrião no filtro, o restante da solução contida no útero foi sifonado e a coleta encerrada. Após o lavado uterino, as doadoras receberam uma apli-

cação intramuscular de prostaglandina-F2 α (7,5 mg, Lutalyse[®]/Pfizer) para indução de um novo estro.

Após o lavado, o líquido sifonado foi rastreado em microscópio estereoscópico e os embriões imediatamente transferidos para uma placa menor contendo meio de manutenção próprio para embriões (Emcare[®]/ICP). Os embriões foram “lavados” quatro a cinco vezes no meio antes de serem envasados para a transferência.

Dois tipos de dispositivos para transferência foram empregados conforme o tamanho do embrião recuperado. Embriões menores (< 0,3 mm), geralmente de sete dias, foram envasados em palhetas francesas de 0,25 mL e transferidos com o aparato de transferência francês. Embriões de tamanho intermediário (0,3 a 0,5 mm), geralmente de oito ou nove dias, foram acondicionados e transferidos em pipetas de inseminação artificial (PROVAR[®]), onde o envasamento foi similar ao feito em palhetas francesas. Esse sistema constituiu-se de uma seringa de 3 mL adaptada a uma pipeta de inseminação e este a um tubo de PVC flexível estéril de diâmetro superior a 5 mm, onde eram feitas as disposições das colunas de ar e meio/embrião, tal como palheta e pipeta de inseminação.

Os embriões foram depositados aleatoriamente entre o corpo e o ápice dos cornos ipsi ou contralateral ao ovário com o corpo lúteo. Nas duas últimas estações, maior número de embriões (75,9% - 176/232) foi transportado já envasados na pipeta de PROVAR[®] à temperatura ambiente para outro haras onde estavam as receptoras, com distância inferior a 4 km.

Foram utilizadas em média três receptoras por doadora, também da raça Mangalarga Marchador, com idade variando entre três e 18 anos. A seleção das receptoras baseou-se no número de dias pós-ovulação, tônus uterino e cervical e ausência de líquido no corno uterino. Com relação à sincronia entre a receptora e a doadora no momento da transferência foram utilizadas receptoras que se encontravam no intervalo de +3 a -8 dias.

O diagnóstico de gestação foi realizado por avaliações ultrassonográficas aos 15 dias a partir da data de ovulação da doadora. Caso a receptora estivesse gestante o exame foi repetido aos 30, 45 e 60 dias, a fim de verificar a taxa de perda embrionária precoce.

Para todos os parâmetros estudados realizou-se estatísticas descritivas. Para as características qualitativas, os dados foram arranjados em tabelas de

contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado, com 5% de probabilidade de erro. Correlação Simples de Pearson foi realizado para estudar as relações entre todos os parâmetros estudados. Empregou-se o programa estatístico SAEG (SAEG 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as seis estações reprodutivas avaliadas, foram realizados 1140 lavados uterinos, o que resultou em uma taxa de recuperação de 72,8% (Tabela 1), sendo que não foi verificada diferença nas taxas de recuperação entre as estações reprodutivas ($p > 0,05$).

Tabela 1. Taxas de recuperação embrionária em éguas da raça Mangalarga Marchador de acordo com o haras e a estação reprodutiva.

Haras	Estação	Lavados Uterinos	Embriões Recuperados (%)
1	1998/1999	104	79 (75,9) ^a
2	1999/2000	248	188 (75,8) ^a
2	2000/2001	229	171 (74,7) ^a
3	2001/2002	210	139 (66,2) ^a
3	2002/2003	107	81 (75,7) ^a
4	2003/2004	242	172 (71,1) ^a
Total	¾	1140	830 (72,8)

Valores seguidos de letras semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $p > 0,05$).

A taxa de recuperação embrionária observada nesse estudo (72,8%), mostrou-se acima dos valores reportados por Carmo (2003) que obteve 59% de recuperação embrionária, e por Jacob et al. (2002) que registraram 64,3% em três estações reprodutivas, em éguas da raça Mangalarga Marchador.

Segundo Squires (2005) a maioria dos embriões recuperados são oriundos de ovulações simples espontâneas, resultando em uma taxa de 50% de embriões recuperados por tentativa. Em éguas jovens (2 a 4 anos) a média de recuperação embrionária é de 85%; em éguas adultas (4 a 18 anos) de 64,4%; e para éguas velhas de 24,1% (Squires 1995).

Em determinados casos, tal diferença se deu à utilização de doadoras de maior idade, o que afetou significativamente a recuperação embrionária conforme mencionado por Squires et al. (1999), ou pela utilização de um grande número de ganhões com diferentes fertilidades (Amann & Pickett 1987), prática muito comum em programas comerciais de grande porte. Em contrapartida, na raça Mangalarga Marchador e no presente estudo, por se tratar de programas sediados em fazendas de criação, utilizou-se menor número de ganhões, preferencialmente aqueles criados no mesmo haras que as éguas doadoras.

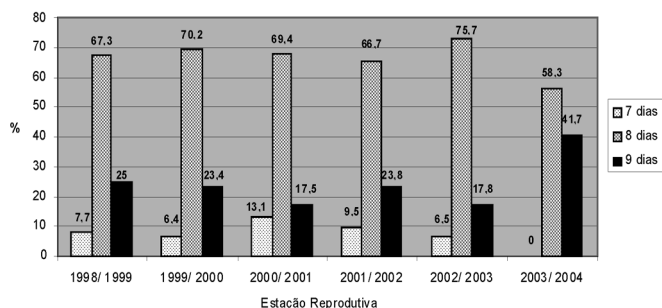


Figura 1. Percentual de embriões com 7, 8 e 9 dias de idade, recuperados nas diferentes estações reprodutivas.

A maioria das coletas é realizada de seis a nove dias após a ovulação, sendo que a taxa de prenhez é maior quando as coletas são feitas no 8º dia, em comparação com aquela feita no 9º dia. As coletas realizadas após o 9º dia dificilmente resultam em prenhez (Squires 1993). Desta forma, no presente estudo foram realizadas coletas entre sete e nove dias, sendo que do total de embriões obtidos no presente estudo 92,8% (830/1140) se encontravam entre oito e nove dias (Figura 1).

Considerando a porcentagem de embriões com sete, oito e nove dias recuperados durante as diferentes estações reprodutivas, a faixa de oito e nove dias, previamente adotada pelo programa justificase pelo fato de que nessa idade, os embriões são facilmente visualizados no filtro coletor, o que agiliza o procedimento de coleta, identificação, avaliação e transferência como um todo (Fleury & Alvarenga 1999).

Fleury & Alvarenga (1999) concluíram que, com as técnicas de manipulação e transferência adequadas, os resultados obtidos com a recuperação embrionária de embriões de oito e nove dias fornecem taxas de prenhez similares (74,7 e 76,5%, respectivamente) àquelas obtidas com os embriões de sete dias de idade (74,5%). Segundo os autores, as coletas de embriões equinos no oitavo dias pós-ovulação tenderam a aumentar a taxa de recuperação embrionária (58%; $p = 0,07$) quando comparada aos dias 7 e 9 (49,3 e 54,5%, respectivamente). Carvalho et al. (2001b) em estudo envolvendo coletas realizadas no sétimo ($n = 23$) e no oitavo dias ($n = 90$) após a ovulação, observaram taxas de recuperação embrionária de 30,4 e 57,8%, respectivamente, indicando melhor recuperação também no oitavo dia ($p < 0,05$).

Em relação ao cio do potro, tal utilização permite o rápido ingresso da doadora no programa, antecipando o cumprimento das metas definidas para cada égua na estação reprodutiva. A involução uterina

na égua ocorre de maneira rápida, segundo Hafez (2004), entre a segunda e a terceira semana pós parto, já segundo Prestes & Alvarenga (2006), a involução ocorre de 10 a 14 dias no puerpério. O único inconveniente observado para a utilização do cio do potro pode ser o tamanho do útero em éguas que não tenham boa involução uterina, o que dificultaria o lavado uterino e a recuperação embrionária. Assim sendo, não houve diferença na recuperação embrionária entre éguas paridas (78,6%) e éguas solteiras (72,3%; $p > 0,05$). Da mesma forma, Carvalho (2001a) não registrou diferença na duração da coleta e na recuperação do meio de lavagem entre éguas no cio do potro (57,9%) e éguas solteiras (50,0%).

No presente estudo foram efetuadas análises de correlação de diversas características reprodutivas (utilização do cio do potro, tamanho do primeiro e segundo folículos pré-ovulatórios, intervalo do início do cio à ovulação e momento da inseminação artificial pré ou pós-ovulação) com a taxa de recuperação embrionária em doadoras (Tabela 2).

Tabela 2. Correlação Simples de Pearson da recuperação embrionária com características biométricas reprodutivas e procedimentos técnicos de inseminação artificial em éguas doadoras da raça Mangalarga Marchador.

Características	r=Correlação	p=Significância
Cio do potro na doadora	0,012	0,341
Tamanho do 1º folículo na doadora	0,083	0,003
Tamanho do 2º folículo na doadora	0,043	0,319
Intervalo do início do cio à ovulação na doadora	0,019	0,269
Inseminação artificial na fase pré-ovulatória	0,115	0,0001
Inseminação artificial na fase pós-ovulatória	0,005	0,438
Ordem do ciclo estral dentro da estação reprodutiva	-0,016	0,294

Foi observada correlação significativa apenas da recuperação embrionária com o tamanho do primeiro folículo ($r = 0,08$) e com inseminação artificial da doadora na fase pré-ovulatória ($r = 0,11$), embora os valores de correlação tenham se mostrado de baixa magnitude e sem significado fisiológico.

Em relação à ordem do ciclo estral dentro da estação reprodutiva, Peres et al. (2006), afirmam que a viabilidade do oócito do primeiro folículo ovulatório parece ser igual àquela de outros ciclos durante a estação ovulatória. Em seu estudo, todos os embriões coletados mostraram-se viáveis após avaliação visual e após o exame de fluorescência, exaltando a eficiência reprodutiva que pode ser alcançada com o primeiro ciclo. Além disso, as características ultraestruturais observadas nos embriões

coletados foram semelhantes àquelas observadas em embriões eqüinos obtidos durante a estação de monta. Este dado corrobora para a afirmação de que os embriões obtidos no primeiro ciclo ovulatório da estação são normais e viáveis.

Squires (1993) reportou que as taxas de prenhez são maiores quando são utilizados ciclos do meio da estação, enquanto que Carnevale et al. (2000) obtiveram maiores taxas de gestação quando utilizaram a primeira ovulação das receptoras.

A inseminação artificial em eqüinos é largamente praticada em todo o mundo, e a maneira mais comumente usada nessa espécie é mediante o resfriamento e transporte de sêmen (Loomis 2006).

Segundo Nunes et al. (2006), a inseminação artificial deve ocorrer nas 24 horas que antecedem a ovulação, pois intervalos maiores poderão ocasionar redução nas taxas de fertilidade, que parece ser muito mais influenciada pelo intervalo entre a IA e a ovulação do que pelo número de inseminações realizadas por ciclo estral. Brandão et al. (2003) não verificaram aumento da taxa de prenhez ao elevar o número de IA/ciclo, utilizando sêmen a fresco diluído. Lisa & Meadows (2008) determinaram que quando as éguas são inseminadas pós-ovulação, a entrada do embrião no útero parece ser mais demorada que o esperado. Assim, foi observado um retardo no desenvolvimento embrionário, no qual vesículas embrionárias foram estimadas menores, equivalentes a 1 dia de crescimento, para éguas inseminadas neste período, em relação a éguas inseminadas antes da ovulação. Desta maneira, em programas de TE o lavado uterino não deve ser realizado antes do dia 7,5 a 8 (Cuervo-Arango et al. 2009).

As éguas receptoras desempenham papel fundamental para o sucesso do programa de transferência de embriões. Para que isso ocorra é importante que tenham boa qualidade de vida. Muitas vezes a ausência dessa condição pode resultar em falhas e prejuízos. Por representarem a categoria mais populosa dentro do sistema de produção, geralmente torna-se impossível que éguas receptoras tenham condições de manejo ideais nas áreas centrais das propriedades. Em função disso, recomenda-se que as receptoras sejam alojadas em instalações distantes das áreas de manejo mais intenso das propriedades, o que leva à utilização do transporte dos embriões coletados e de uma perfeita sincronia doadora-receptora.

Desta forma foi analisada a influência de diferentes fatores sobre as taxas de prenhez em receptoras de embriões, tais como: idade do embrião; trans-

Tabela 3. Correlação Simples de Pearson do status reprodutivo (gestantes, não gestantes ou perda embrionária precoce) com características biométricas reprodutivas, em éguas receptoras da raça Mangalarga Marchador.

Características	r=Correlação	p=Significância
Idade do embrião	0,005	0,446
Transporte dos embriões	-0,040	0,130
Sincronia doadora/receptora na ocasião da transferência	-0,075	0,171
Intervalo do parto à coleta	-0,029	0,341
Cio do potro na receptora	-0,064	0,179
Tamanho do 1º folículo na receptora	0,028	0,214
Tamanho do 2º folículo na receptora	-0,272	0,222
Intervalo do início do cio à ovulação na receptora	0,015	0,344
Intervalo do parto à transferência na receptora	0,074	0,148
Sincronia entre égua doadora e receptora	0,06	0,04

porte dos embriões; sincronia doadora-receptora na ocasião da transferência; uso do primeiro ciclo pós-parto da receptora; tamanho do primeiro e segundo folículo da receptora; intervalo do início do cio à ovulação e intervalo do parto à transferência do embrião para a receptora (Tabela 3).

Foi observada correlação significativa apenas do status da égua com a sincronia entre doadora e receptora ($r = 0,06$), embora os valores de correlação tenham se mostrado de baixa magnitude e sem significado biológico.

De acordo com Squires (1993), a sincronia entre doadora e receptora afeta as taxas de prenhez. Em geral, éguas que ovulam logo depois da doadora são melhores candidatas que aquelas que ovulam antes, especialmente se a ovulação ocorrer 2 ou mais dias antes da doadora (intervalo de sincronia +2). O ambiente uterino altera-se marcadamente sob a influência da progesterona, sendo que um embrião em um útero assincrônico pode estar sujeito a concentrações hormonais e fatores de crescimento não correspondentes a fase na qual ele se encontra, afetando o estabelecimento da gestação, porém eqüídeos permitem que uma maior janela de assincronia seja utilizada comparando-se com bovinos (Wilsher et al. 2006). Kumar et al. (2008) utilizaram receptoras com grau de sincronia um dia antes (-1) até 2 dias depois (+2), obtendo altas taxas de gestação. Santos et al. (2008) concluíram que receptoras de embrião podem ser utilizadas com um amplo grau de assincronia, um dia antes (-1) até seis dias depois (+6) com as doadoras de embrião.

Outros estudos concluíram que não se deve apenas avaliar o dia da ovulação da receptora, visto que receptoras D3 e D8 (após ovulação) não mostraram diferença significativa nas taxas de gestação, a eco-

genicidade e o tônus uterino no momento da TE, também devem ser levados em consideração na escolha da melhor receptora para o momento da ino-vulação (Fleury et al. 2006).

Vários fatores influenciam diretamente na taxa de gestação em um programa TE, dentre os mais importantes estão àqueles relacionados com a receptora (manejo e seleção), a qualidade do embrião, dia de ino-vulação, e o fator técnico. Programas Comerciais de TE no Brasil vem mostrando que o método de transferência transcervical gera taxas de gestação em torno de 60 a 70%.

Com relação à taxa de gestação do presente estudo, melhores resultados foram verificados nos intervalos de -3 e -2 dias com relação à sincronia de ovulação das doadoras e receptoras ($p < 0,05$) e as menores taxas nos intervalos de -6 ($p < 0,05$) com valores intermediários nos intervalos de -1, 0 e +1, sendo que os dois últimos não diferiram do intervalo -6 ($p > 0,05$). No entanto, Squires et al. (1999), Jacob (2002), McKinnon & Squires (2007) observaram taxas de prenhez semelhantes para receptoras com sincronia de ovulação de +1 e -3 em relação às doadoras.

Jacob et al. (2002) adotaram intervalo de sincronia (+1 a -6) entre receptoras e doadoras e registraram, respectivamente, taxas de gestação de 70,3% (270/384) aos 14 dias e 64,3% (247/384) aos 60 dias, com perda embrionária precoce de 6% aos 60 dias após a ovulação da doadora. Jacob et al. (2010) alcançaram 60% de gestação aos 60 dias (274/454). Santos et al. (2008) obtiveram 63,6% de gestação aos 60 dias de 382 embriões transferidos para receptoras entre D2 e D8.

Considerando então, o dia 0 como uma coleta realizada no dia 8 pós-ovulação, as receptoras que apresentaram melhores taxas de prenhez (intervalos de -3 e -2) encontravam-se com 5 e 6 dias de ovuladas. Esse resultado corrobora aos citados na literatura (Carnevale et al. 2000, Jacob et al. 2002), demonstrando a flexibilização que a TE tem sofrido nos últimos anos.

Com base em todas estas afirmativas, pode-se dizer que a sincronia absoluta de ovulação entre doadora e receptora não é necessária na espécie equina. Esse resultado tem grande relevância, uma vez que viabiliza a prática atual de manejo que separa física e organizacionalmente éguas doadoras de éguas receptoras dentro do programa, o que acaba permitindo maior cuidado com as receptoras, fator mais importante dentro de um programa de TE.

Embora no presente estudo não tenha sido estudado o efeito da utilização de éguas velhas em programas de TE, Squires et al. (1999) afirmam que o desenvolvimento embrionário e seu transporte no oviduto de uma égua velha, pode ser retardado. Desta forma, a recuperação embrionária nos dias 8 e 9 pós-ovulação, pode ser mais apropriada para éguas de maior idade. Éguas mais velhas com históricos reprodutivos ruins produzem menor quantidade de embriões e dentre as prováveis causas de recuperação embrionária reduzida para esses animais podem ser citadas patologias uterinas e tubáricas, além de perda embrionária precoce.

A redução da fertilidade ocorre com o aumento da idade em éguas a partir da fase de adolescência, ocorrendo um aumento significativo da morte embrionária, associado com uma tendência maior das éguas mais velhas apresentarem menores taxas de gestação que as éguas mais jovens (Squires et al. 1999). No entanto não está claro se a subfertilidade encontrada em éguas idosas é consequência direta da idade ou da maior incidência de alterações dos órgãos genitais (Squires et al. 1999).

Em geral as éguas velhas apresentam baixa fertilidade e quando em programas de TE, os índices de recuperação embrionária também são baixos, refletindo a dificuldade durante o processo de fecundação e/ou desenvolvimento e manutenção embrionária intrauterina. Mas Squires et al. (2003) reporta que éguas velhas com histórico de obtenção de prenhez e perda embrionária posterior ainda são melhores doadoras que aquelas repetidoras de cio.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o primeiro ciclo pós-parto das éguas doadoras pode ser utilizado sem prejuízo na taxa de recuperação embrionária e na taxa de prenhez. Os embriões podem ser coletados com idade variando entre sete e nove dias, visando melhor ajuste para o momento adequado da receptora, a qual pode ser aproveitada em uma ampla faixa de dias pós-ovulação. E, além disso, os embriões podem ser transportados envasados à temperatura ambiente por curtas distâncias (menor que uma hora de viagem) sem perdas na taxa de prenhez.

As baixas correlações existentes entre as características estudadas possuem baixa influência sobre as taxas de prenhez obtidas. Portanto, a utilização de maior flexibilização na técnica proporciona vantagens para programas comerciais de transferência de embriões eqüinos, possibilitando otimização no

uso de receptoras, redução de custos e melhorias no manejo das fazendas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amann R.P. & Pickett B.W. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *J. Equine Vet. Sci.*, 7:145-173, 1987.
- Brandão F.Z., Silva Filho J.M., Palhares M.S., Saturnino H.M., Viana W.S., Dantas M.S. & Oliveira H.N. Efeito da concentração espermática e do número de inseminações artificiais sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55:61-67, 2003.
- Carmo M.T., Trinque C.L.N., Lima M.M., Medeiros A.S.L. & Alvarenga M.A. Estudos da incidência de múltiplas ovulações em éguas da raça brasileira de hipismo e suas implicações em um programa de transferência de embriões. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 26:252-254, 2003.
- Carnevale E.M., Ramirez E.L., Squires E.L., Alvarenga M.A., Vanderwall D.K. & McCue P.M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology*, 54:965-979, 2000.
- Carvalho G.R., Fonseca F.A., Silva Filho J.M., Ruas J.R.M. & Borges A.M. Avaliação da utilização do cio do potro na coleta de embriões. *Rev. Bras. Zootec.*, 30:1445-1450, 2001a.
- Carvalho G.R., Silva Filho J.M., Fonseca F.A., Ruas J.R.M. & Borges A.M. Influência da técnica de coleta sobre a taxa de recuperação de embriões eqüinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53:231-239, 2001b.
- Cuervo-Arango J., Aguilar J. & Newcombe J.R. 2009. 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*, 71:1267-1275.
- Fleury J.J. & Alvarenga M.A. Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 51:261, 1999.
- Fleury J.J., Fleury P.D.C. & Landin-Alvarenga F.C. Effect of embryo diameter and storage period on pregnancy rates obtained with equine embryos stored in Ham's F-10 with Hepes Buffer at a temperature of 15-18°C - preliminary results. *Theriogenology*, 58:749-750, 2002.
- Fleury P.D.C., Alonso M.A. & Balieiro J.C.C. Avaliação da receptora: efeito de características uterinas e tempo de ovulação. *Acta Sci. Vet.*, 34:502, 2006.
- Jacob J.C.F., Domingues I.B., Gastal E.L., Gastal M.O., Silva A.G., Mello C.M. & Gasparetto F. The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 57:545, 2002.
- Jacob J.C.F., Bezerra L.L., Santos H.A., Silva P.C.A. & Mas-sard C.L. Inquérito Epidemiológico pelo Nested-PCR para Detecção de *Babesia equi* em um Programa de Transferência de Embrião. *Acta Sci. Vet.*, 38(supl. 2):379, 2010.
- Kumar D., Jhamb D., Kumar N. & Badial D. Foals born through fresh embryo transfer in India. *Proc. 10th Int. Cong. World Equine Vet. Assoc.*, 2008. p.567-568.
- Lisa H.M. & Meadows S. Essential management practices in commercial equine embryo transfer. *Proc. 7th Int. Symp. Equine Embryo Transfer*, 2008. p.101-102.
- Loomis P.R. Advanced methods for handling and preparation of stallion Semen. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, 22:663-676, 2006.
- Malschitzky E., Schilela A., Mattos A.L.G., Garbade P., Gregory R.M. & Mattos R.C. Effect of intra-uterine fluid accumulation during and after foal-heat and of different management techniques on the postpartum fertility of thoroughbred mares. *Theriogenology*, 58:495-498, 2002.
- McKinnon A.O. & Squires E.L. Embryo transfer and related technologies, p.319-334. In: *Current Therapy Equine Reproduction*. Saunders, Missouri, EUA, 2007.
- Nunes D.B., Zúccari C.E.S.N. & Silva E.V.C. Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmen refrigerado. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 30:42-56, 2006.
- Peres K.R., Landim-Alvarenga F.C. & Alvarenga M.A. Utilização do primeiro ciclo ovulatório da estação reprodutiva para produção de embriões em éguas sob condições tropicais. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 43:270-279, 2006.
- Prestes N.C. & Alvarenga F.C.L. *Obstetrícia Veterinária*. 4^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006. p.123-125.
- SAEG. *Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas*. UFV, Viçosa, 2007.
- Santos G.O., Nogueira B.G., Deveza R.F.R., Sá M.A.F. & Jacob J.C.F. Avaliação do efeito de diversos parâmetros sobre a eficiência de um programa comercial de transferência de embriões em eqüinos. *Acta Sci. Vet.*, 36:633, 2008.
- Squires E.L. Embryo transfer, p.357-367. In: McKinnon A.O. & Voss J.L. (Eds), *Equine reproduction*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1993.
- Squires E.L. & Seidel Jr G.E. Collection and transfer of equine embryos. *Anim. Reprod. Biotechnol. Lab. Bull.*, 8:27-31, 1995.
- Squires E.L., McCue P.M. & Vanderwall D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, 51:91-104, 1999.
- Squires E.L., Carnevale E.M., McCue P.M. & Bruemmer J.E. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*, 59:151-170, 2003.
- Squires E.L. Perspectiva para o uso de biotecnologias na reprodução eqüina. *Acta Sci. Vet.*, 33(Supl 1):69-82, 2005.
- Wilsher S., Kolling M. & Allen W.R. Meclofenamic acid extends donor-recipient asynchrony in equine embryo transfer. *Equine Vet. J.*, 38:428-432, 2006.