

## USO DE PROGESTERONA DE LONGA AÇÃO E INOVULAÇÃO DE ÉGUAS NO SEGUNDO DIA APÓS A OVULAÇÃO

**Tiago Gomes Rodrigues<sup>1</sup>, José Renato Costa Caiado<sup>1</sup>, Bruno Fagundes<sup>2\*</sup>, José Frederico Straggiotti Silva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense

<sup>2</sup> Universidade Iguazu

\*Autor para correspondência. b.fagundes@yahoo.com.br

### RESUMO

Este estudo foi conduzido com a finalidade de avaliar o uso de progesterona de longa ação ( $P_4^{LA}$ ) no segundo dia (D2) após ovulação de receptoras de embriões no intuito de otimizar a sua utilização em programas de transferência de embriões eqüinos (TEE). Cento e noventa e dois (192) ciclos estrais de éguas receptoras de embriões foram avaliados por palpação retal e ultrassonografia sendo observadas as características dos órgãos genitais durante o estro até o dia da ovulação (D0), e no diestro, no momento da inovulação embrionária. Ao apresentar características reprodutivas incompatíveis com o ciclo estral, 33 receptoras (17%) foram descartadas enquanto que 159 receptoras (83%) apresentaram boas condições dos órgãos genitais sendo classificadas como desejáveis para o programa de TEE. Cento e cinquenta e um (151) embriões foram recuperados (68%), resultando em 108 prenhez (72%). As receptoras foram divididas em três tratamentos: 55 inovulações no D2 com administração de 1500 mg  $P_4^{LA}$  no dia da ovulação (D0), 05 inovulações no D2 sem administração de  $P_4^{LA}$  e 91 inovulações do quarto (D4) ao oitavo (D8) dia após ovulação sem tratamento prévio de progestagênio, sendo que as taxas de prenhez foram de 71%, 20% e 75% respectivamente. Deste modo observa-se que a taxa de prenhez do grupo de éguas inovuladas no D2 com administração de 1500 mg  $P_4^{LA}$  no dia da ovulação (D0) e o grupo de receptoras inovuladas do quarto (D4) ao oitavo (D8) dia após ovulação sem tratamento prévio de progestagênio, não apresentam diferença estatística ( $p=0,05$ ), sendo de grande importância enfatizar que tais procedimentos vêm contribuir na redução de custos da técnica de transferência de embriões em eqüinos, por meio da redução da relação receptora/doadora.

**Palavras chave:** eqüinos, progesterona de longa ação, receptoras, transferência de embriões.

### ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the use of progesterone long-acting ( $P_4^{LA}$ ) on the second day (D2) after ovulation of recipients of embryos in order to optimize its use in programs of equine embryo transfer (TEE). One hundred and ninety-two (192) estrous cycles of recipients mares were evaluated by rectal palpation and ultrasound and it was observed the characteristics of the genitals during estrus until the day of ovulation (D0) and, in diestrus, at the time of embryonic inovulation. In presenting reproductive traits incompatible with the estrous cycle, 33 recipients (17%) were discarded while 159 recipients (83%) had good conditions of the genital organs which were classified as desirable for the program of TEE. One hundred and fifty-one (151) embryos were recovered (68%), resulting in 108 pregnancies (72%). The recipients were divided into three treatments: 55 mares inovulated on D2 with the

administration of 1500 mg P<sub>4</sub><sup>LA</sup> at the day of ovulation (D0), 05 recipients inoovulated in D2 without administration of P<sub>4</sub><sup>LA</sup> and 91 mares inoovulated at the fourth (D4) to eighth (D8) days after ovulation without pretreatment of progesterone. The pregnancy rates were 71%, 20% and 75% respectively. It was observed that the pregnancy rate of the group of mares inoovulated in D2 with administration of 1500 mg P<sub>4</sub><sup>LA</sup> on the day of ovulation (D0) and the group of recipients inoovulated at the fourth (D4) to eighth (D8) days after ovulation without progesterone treatment showed no statistical difference ( $p = 0.05$ ). This procedure contribute in reducing the cost of the technique of embryo transfer in horses, through the reduction of the recipient/donor rate.

**Keywords:** embryo transfer, equine, progesterone long-acting, recipients

## 1 - Introdução

É crescente o estudo na biotecnologia reprodutiva equina para maximizar a produção e viabilizar os investimentos. A transferência de embriões (TE) é uma destas técnicas que possibilitou o uso de animais de elevado padrão zootécnico, resultando em um maior número de descendentes por ano. Entretanto, existem alguns fatores que interferem na eficiência da implantação de um programa de TE, destacando-se a necessidade de manutenção de um grande número de receptoras no haras. Para o sucesso de um programa de transferência de embriões equinos, o controle e a sincronia do ciclo estral entre doadoras e receptoras é condição relevante, sendo aconselhável o uso de receptoras que estejam entre o quarto e o oitavo dia após a ovulação (Losinno *et al.*, 2006).

A terapia com progesterona tem uma enorme aplicabilidade na reprodução equina, atuando na sincronização e regulação do estro, no tratamento de patologias reprodutivas, na manutenção da prenhez e como coadjuvante na inoovulação de embriões. O primeiro pesquisador a reportar o uso de um progestágeno sintético via oral, Altrenogest, para o controle do estro e ovulação na égua foi Weibel (1975). Desde então, surgiram diversas citações desta aplicação hormonal (Neely, 1988; Allen *et al.*, 1980 e Squires *et al.*, 1983) e diferentes veículos de administração têm sido desenvolvidos.

Recentemente, um preparado de veículo oleoso, progesterona de longa ação (P<sub>4</sub><sup>LA</sup>) tem sido usada com sucesso em éguas com disfunção luteal, sendo realizadas aplicações (1500 mg P<sub>4</sub>) em intervalos de 7 dias mantendo as concentrações séricas de progesterona em níveis adequados a manutenção da prenhez, sem que haja necessidade da presença do corpo lúteo (Bringel *et al.* 2003). Caiado *et al.* (2007) demonstraram que receptoras quando tratadas com progesterona exógena podem ser utilizadas em um momento mais precoce do ciclo, administrando progesterona de ação diária em receptoras a partir do dia da ovulação (D0).

A utilização de novos veículos biodegradáveis de liberação lenta controlada associados à progesterona mantém os níveis plasmáticos deste hormônio por 6 a 8 dias através de uma única aplicação injetável semanal. (Losinno *et al.*; 2006).

A finalidade do presente trabalho foi aumentar a disponibilidade de receptoras aptas a serem inoovuladas através da aplicação de progesterona exógena de longa ação para utilização no segundo dia (D2) após a ovulação.

## 2 – Materiais e Métodos

Cento e cinquenta (150) animais da raça Mangalarga Marchador foram utilizados, durante duas estações de monta entre os meses de setembro/março de 2006/2007 e 2007/2008,

em Campos dos Goytacazes – RJ, sendo quarenta (40) éguas doadoras de embrião e cento e dez (110) receptoras de embriões, com idade variando de três a quatorze anos, todas à campo em pastagem de gramínea, água, sal mineral ad libidum e suplementadas diariamente com volumoso capim-elefante (*Penisetum purpureum*) picado e concentrado (14% de PB) em bretes com cochos individuais. O status de doadora ou receptora fora definido de acordo com o valor genético e zootécnico de cada uma das éguas.

Uma vez ao dia, no próprio brete de suplementação alimentar, as éguas foram submetidas a exame do trato reprodutivo, por meio de *ultra-sonografia* (*Aloka SSD-500* acoplado a um transdutor transretal linear de 5,0 MHz), realizando avaliação das características dos órgãos reprodutivos das doadoras e receptoras. Os dados coletados como tamanho e consistência dos folículos; ovulação; avaliação morfológica dos corpos lúteos; eventuais folículos; presença de líquidos, tumores, cistos, edema uterinos; tônus uterino e cervical, bem como da abertura ou fechamento cervical e diagnóstico de prenhez, foram cuidadosamente anotados de acordo com McKinnon, (1999) e Caiado *et al.* (2007).

As receptoras foram sincronizadas com as doadoras por meio da aplicação de uma dose de prostaglandina F2 alfa, durante o diestro, dois dias após a aplicação do mesmo hormônio na doadora, objetivando provocar luteólise e cio nas duas categorias de fêmeas.

As doadoras quando submetidas a controle folicular por meio de palpação retal e detectado um folículo dominante igual ou superior a 35 mm de diâmetro foram inseminadas a cada 48 horas até a ovulação, com sêmen de garanhões da mesma raça, na dose de  $500 \times 10^6$  espermatozoides viáveis, avaliados através de microscopia óptica.

Quando da detecção da ovulação, somente as receptoras classificadas como possuidoras de condições desejáveis nesta fase do ciclo estral foram utilizadas, obedecendo os seguintes parâmetros: éguas que ovularam um ou dois folículos não permanecendo outros folículos com diâmetro maior que 20mm no momento da ovulação, com tônus entre dois e três, apresentando durante a fase estral edema uterino grau 3 e abertura cervical, segundo Squires *et al.* (2003).

As receptoras, no momento da ovulação e possuidoras de condições desejáveis foram divididas aleatoriamente em três tratamentos; cabe ressaltar que tais observações foram de 192 ciclos estrais: Convencional, controle e grupo tratado com progesterona ( $P_4^{LA}$ ) de longa ação:

- Convencional (D4 – D8): (n=115) receptoras ovuladas e classificadas como boas/excelentes para inovulação do quarto dia (D4) pós ovulação ao oitavo dia (D8) pós ovulação.
- Controle (D2): (n=13) receptoras ovuladas e classificadas como boas/excelentes para inovulação no segundo dia (D2) pós ovulação, sem tratamento prévio com progesterona.
- Tratadas (D2 +  $P_4^{LA}$ ): (n=64) receptoras ovuladas e classificadas como excelentes no dia da ovulação sendo administradas a estas por via intra-muscular 1500 mg de progesterona de longa ação e usadas no D2, ou seja, no segundo dia pós ovulação.

Os embriões foram coletados de forma não-cirúrgica entre os dias 7,0 e 9,0 após a ovulação da doadora (considerando-se D0 como o dia da ovulação), conforme procedimentos descritos por Squires *et al.* (2003), utilizando-se a solução de Ringer com lactato de sódio como meio de coleta (Alvarenga *et al.*, 1993; Fleury, 1998a;

Caiado *et al.*, 2005). Somente os embriões de qualidade grau I e II (McKinnon & Squires, 1988), foram utilizados neste experimento.

No momento da transferência, as receptoras selecionadas, para serem inovuladas (D2 , D2 +  $P_4^{LA}$  e D4 - D8), passaram por uma nova avaliação, sendo examinadas por meio de palpação retal e ultra-sonografia, observando-se o tônus uterino e cervical, morfologia dos

corpos lúteos e a presença de edema, cistos, fluidos ou ar uterinos (Carnevale et al., 2000). Seguindo os parâmetros de Caiado et al. (2007), com modificações de observações ultrassonográficas, tais éguas foram sendo classificadas como excelentes, boas, marginalmente aceitáveis ou rejeitadas, de acordo com as seguintes características:

- ✓ **Excelentes.(1)** Receptoras que apresentaram pelo menos um corpo lúteo ecogenicamente bem definido, tônus uterino de 3 ou 4, cérvix firmemente fechada e ausência de cistos, dobras, tumores uterinos e que tivesse apresentado na fase estral condições endometriais morfoecograficamente condizentes a fase.
- ✓ **Boas.(2)** Apresentaram corpos lúteos e tônus uterino nas mesmas condições das anteriores, porém, apresentaram um pouco de dobra endometrial com cérvix menos firmemente fechada que nas do grupo anterior.
- ✓ **Marginalmente aceitáveis.(3)** O corpo lúteo estava presente, porém era pequeno (diâmetro menor que 15 mm) ou de imagem ecogenicidade ruim. O útero apresentava tônus entre 2 e três com ou sem presença de pequenos cistos endometriais e a cérvix com um fechamento frágil (inconsistente ou frouxo).
- ✓ **Rejeitadas.(4)** Não apresentavam corpo lúteo ecogenicamente definido, com tônus uterino de 2 para menos; presença de patologias uterinas e edema endometrial pronunciado bem como abertura cervical.

Somente as receptoras consideradas como excelentes ou boas foram inovuladas, utilizando-se a técnica não cirúrgica descrita por Riera et al. (1993) com modificações de Caiado et al. (2005).

Para o diagnóstico de gestação as receptoras foram examinadas por ultra-sonografia transretal após cinco dias da inovulação e quando positivo realizado o exame ultrassonográfico em intervalos de quinze dias até completar os sessenta dias de prenhez.

Foi realizada a análise descritiva para cada um dos três tratamentos avaliando a frequência de animais utilizados, os tipos de problemas encontrados e as taxas de prenhez e através do programa estatístico SAEG 9.0 as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste t ( $P < 0,05$ ).

### **3 – Resultados e Discussão**

Foram realizadas duzentos e vinte e três (223) lavagens uterinas para coleta de embrião equino durante o experimento, obteve-se cento e cinquenta e um (151) embriões, equivalendo a uma taxa de recuperação embrionária de sessenta e oito por cento (68%). Dos embriões recuperados, obteve-se um total de cento e oito (108) prenhezes (72%), tabela 01.

Dos tratamentos avaliados, cinquenta e cinco (55) éguas foram inovuladas no segundo dia após ovulação, previamente tratadas com 1500 mg de progesterona longa ação, resultando em trinta e nove (39) prenhezes, ou seja, setenta e um (71%) por cento de prenhez. No tratamento convencional, noventa e uma (91) éguas foram inovuladas do quarto ao oitavo dia após ovulação, sem nenhum tratamento prévio de progestagênio, obtendo sessenta e oito gestações (68), uma taxa de setenta e cinco por cento (75%) de aproveitamento. Já no grupo controle cinco (05) éguas foram inovuladas no segundo dia após ovulação, sem tratamento prévio com progesterona longa ação, resultando em uma (01) prenhez (20%).

**Tabela 01:** Resultados obtidos durante o período de duas estações de monta em equinos 2006/2007 e 2007/2008, em criatórios da raça Mangalarga Marchador na cidade de Campos dos Goytacazes.

<b>Nº de Lavados</b>	<b>Recuperação embrionária</b>	<b>Taxa de Prenhez</b>	<b>receptora D2 + P<sub>4</sub><sup>LA</sup></b>	<b>receptoras D2 sem P<sub>4</sub><sup>LA</sup></b>	<b>receptoras D4 - D8</b>
223	151 (68%)	108 (72%)	39 (71%)	01 (20%)	68 (75%)

Os resultados obtidos de recuperação de embriões estão em igual parâmetro a outros pesquisadores, tais como Squires et al. (2003) e Caiado et al. (2005) que apresentaram índices de recuperação embrionária de 58,9%. As taxas de prenhez pela técnica não cirúrgica de TE, também, estão em consonância com Caiado et al. (2007) que obteve 76 % de prenhez quando utilizou receptora no D5 sem uso de progestagênio.

Sendo a proposta deste trabalho avaliar inovulações no segundo dia após a ovulação com a administração de progesterona, nota-se através da Tabela 01, uma taxa de prenhez de 71% e quando comparado ao grupo padrão de receptoras inovuladas entre os dias 4 à 8 (75% de prenhez), pode-se afirmar que não há diferença estatística entre os dois grupos, apresentando um intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

Neste experimento, cento e noventa e dois (192) ciclos estrais foram monitorados de éguas receptoras da raça Mangalarga Marchador, por meio de palpação retal acompanhada de ultra-sonografia, revelando até o momento da ovulação um número de 33 receptoras (17%) que apresentavam órgãos genitais com características indesejáveis, enquanto 159 éguas (82%) apresentavam características desejáveis ( $P < 0,05$ ). Tabela 02.

No dia dos lavados uterinos para recuperação embrionária e posterior transferência, tais receptoras retornaram ao brete de contenção para uma nova reavaliação, por meio de palpação retal guiada por ultra-sonografia, observando-se que das 33 éguas classificadas anteriormente como indesejáveis (Grupo A), somente 4 (12,12%) delas melhoraram os parâmetros uterinos e foram consideradas terem boas condições do sistema genital para receberem o embrião. No entanto, 87,88% dos animais do Grupo A permaneceram na condição de indesejáveis, sendo classificadas como marginalmente aceitáveis ou rejeitadas e por isso, foram descartadas do processo de inovulação ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Classificação de receptoras da raça Mangalarga Marchador, quanto às características dos seus órgãos genitais no dia ovulação em comparação com o dia da inovulação (n = 192 éguas).

Classificação dos órgãos genitais de éguas receptoras no dia da ovulação Número de casos (%)				Classificação dos órgãos genitais das receptoras no dia da inovulação Número de casos (%)	
				Excelentes ou bons	Marginalmente aceitáveis ou rejeitados
Grupo indesejáveis <sup>1</sup>	A	-	33 (17)	4 (12,12%)	29 (87,88%)
Grupo desejáveis <sup>2</sup>	B	-	159 (83%)	147 (92,45%)	12 (7,55%)
Total (%) =			192 (10%)	151 (78,64%)	41 (21,36%)

1 - Características não desejáveis dos órgãos genitais na ovulação: a) tônus uterino classificado como 1, 3 e 4; b) presença de folículos com diâmetro maior que 20 mm c) ausência ou pouco de edema endometrial durante o estro ou/e d) cérvix fechada. 2- Características desejáveis: a) tônus uterino 2; b) ausência de folículos com diâmetro maior que 20 mm c) ocorrência de edema endometrial durante o estro e d) cérvix aberta.

Dos 159 animais pertencentes ao grupo B (83%), cujas características do sistema genital estavam condizentes aos parâmetros esperados, também no dia da inovulação, estas receptoras foram reavaliadas, ficando 147 (92,45%) classificadas como excelentes ou boas e 12 éguas (7,55%) como marginalmente aceitáveis ou rejeitadas, não aptas para receber embrião. Valendo ressaltar que o acompanhamento das fases que antecedem a ovulação é de grande valia, pois as receptoras classificadas como boas e excelentes, até o momento da ovulação, permaneceram na sua maioria como aptas a receberem o embrião.

Permitindo afirmar ser de grande importância o acompanhamento das características morfológica do útero e ovário durante o estro, pois segundo Allen, (2001), os efeitos da progesterona sobre as características morfológicas da cérvix e útero são eficazes somente após efeitos estrogênicos. Afirmando Hughes *et al.*, (1977) ser na fase do estro, a presença do estradiol 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.

Analisando os resultados do acompanhamento diário de morfoecogenicidade luteínica Arruda *et al* (2001), definiram que até o segundo dia após a ovulação, não pode-se caracterizar a imagem do corpo lúteo com a sua funcionalidade, isto sugere que neste período há organização do corpo hemorrágico e a produção de progesterona não é suficiente para elevar os níveis de progesterona acima de 1 ng/ml.

Portanto as dosagens de progesterona representam um meio eficiente para indicar a atividade da glândula luteínica, porém, a inexistência de kits comerciais, a baixo custo para serem utilizados a campo, tornam a dosagem de P<sub>4</sub> uma avaliação onerosa e não rotineira.

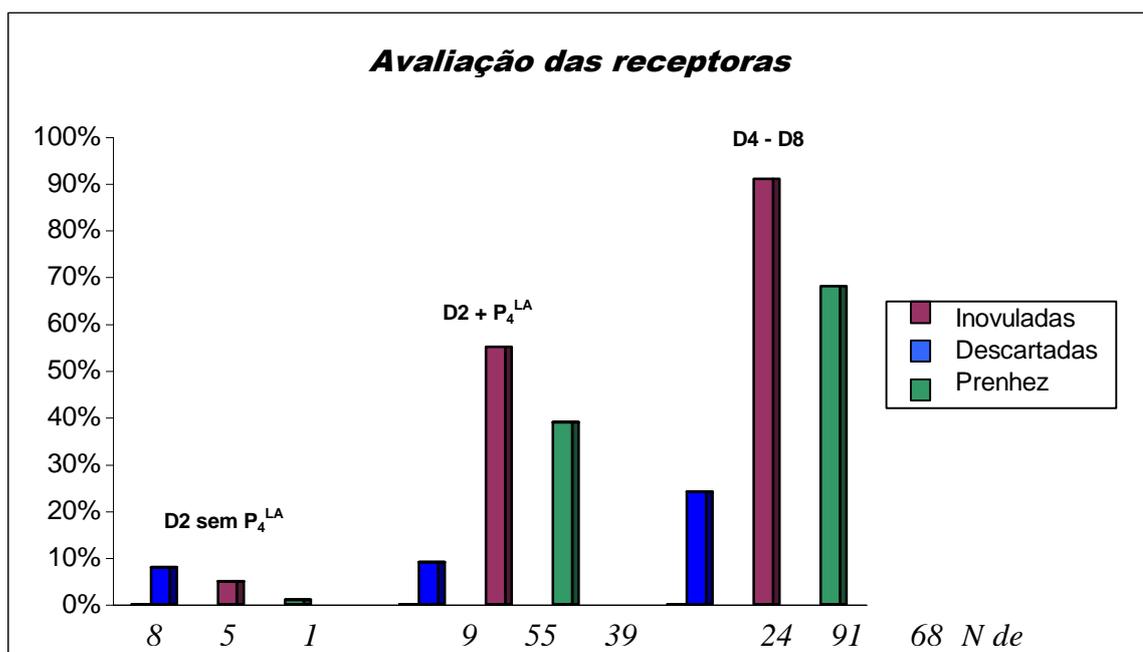
Objetivando a avaliação das características do sistema genital, por meio de exame de palpação retal e ultrassonográfico até o dia da ovulação, das 33 receptoras classificadas como indesejáveis e pertencentes ao Grupo A: revela 82% destes animais com ausência de edema endometrial de grau 3 no estro; 70% com tônus uterino 1, 3 ou 4; 27% com folículos acima de 20 mm após ovulação e 15% apresentando cérvix fechada. Portanto uma porcentagem maior e significativa (P < 0,05) de problemas relacionados a edema endometrial e tônus uterino, em comparação aos problemas de fechamento cervical e persistência de folículos.

Segundo Caiado et al. (2007), as características do sistema genital é um dos principais fatores decisórios para a classificação de receptoras. Apresentando, neste estudo o fator edema endometrial na fase de estro foi um dos principais, parâmetros na classificação de éguas receptoras.

Dentre os animais que apresentaram tônus uterino classificado, segundo Mckinnon et al. (1998), como 1, característico da fase de anestro, e ou tônus classificado como 3 ou 4, característicos da fase do diestro ou gestação, no dia da ovulação, também demonstram alterações fisiológicas ou patológicas, sendo por isto descartadas. A respeito dos folículos iguais ou maiores do que 20 mm no momento da ovulação, essa é uma condição fisiologicamente de pouca freqüência, pois após a dominância folicular, os subordinados tendem a regredir até o momento da ovulação (Gastal, 2000; Ginther, 2000), sendo pouco freqüente encontrar folículos de diâmetro maior que 10 mm no período de 4 a 9 dias após a ovulação. Quanto ao fechamento cervical no dia da ovulação, trata-se de evento fisiológico pouco comum, pois normalmente a cérvix encontra-se com pouca tonicidade, permitindo sua abertura nessa época, por ação do estradiol (Ginter, 2000).

Corroborando com a afirmativa de Losinno et al. (2006), de que as receptoras representam um gargalo para o sucesso em um programa de transferência de embriões equino, este trabalho busca enfatizar a necessidade de uma avaliação criteriosa das receptoras a serem inovuladas, realizando as inovulações somente em receptoras aptas e classificadas com boas e aceitáveis.

Buscando fazer a análise comparativa entre os três tratamentos experimentais, o gráfico 01, demonstra que das treze receptoras classificadas para serem inovuladas no segundo dia após a ovulação sem aplicação prévia de fármaco, somente cinco receptoras ficaram aptas, com condições uterinas para serem inovuladas e apenas uma teve resultado positivo, o que representa uma taxa de prenhez de 20% (Tabela 01). Este baixo resultado em prenhez, vai ao encontro com Arruda *et al* (2001), que predizem acontecer até o segundo dia após a ovulação, a organização do corpo hemorrágico, resultando na formação do corpo lúteo.



\* Receptoras inovuladas no D2 sem administração de  $P_4^{LA}$  (**D2 sem  $P_4^{LA}$** ), Receptoras inovuladas no D2 + 1500 mg  $P_4^{LA}$  (**D2 +  $P_4^{LA}$** ); Receptoras inovuladas do D4 ao D8 (**D4-D8**).

**Figura 1.** Avaliação dos índices reprodutivos dos três grupos de receptoras experimentais: Receptoras inovuladas no D2 sem administração de  $P_4^{LA}$  (**D2 sem  $P_4^{LA}$** ); Receptoras inovuladas no D2 + 1500 mg  $P_4^{LA}$  (**D2 +  $P_4^{LA}$** ); Receptoras inovuladas do D4 ao D8 (**D4-D8**).

Dentre o tratamento de receptoras com administração de  $P_4^{LA}$  pós ovulação, um total de 64 animais foram selecionados, dos quais no dia da inovulação nove (09) foram descartados, devido presença de características indesejáveis (14%), sendo realizada 55 inovulações (86%). Neste grupo obteve-se uma taxa de prenhez de 71%, ou seja, 39 dos 55 animais inovulados, ficaram prenhes, o que está de acordo com Caiado et al. (2007) que obteve 72,7% de prenhez quando utilizou receptoras no D2 com administração de progesterona de aplicação diária. Sugerindo que a aplicação intra-muscular de 1500 mg de progesterona longa ação no dia da ovulação, seja capaz de elevar as taxas do hormônio circulante e preparar o endométrio em condições normais para receber o embrião, já no segundo dia após a ovulação.

Os resultados de prenhez alcançados no grupo das receptoras inovuladas entre os dias 4 ao 8 após ovulação (75%), sem o tratamento prévio de progestagênio, estão de acordo com os melhores resultados citados na literatura, Squires et al. (1999) relatam que os resultados obtidos por veterinários de campo realizando a técnica não cirúrgica variam de 50% a 70%. Caiado et al. (2007) relata um sucesso de 76% em receptoras no D5 sem aplicação de progestagênio. Já Carvalho (2000) que trabalhou com receptoras paridas no cio do potro e solteiras obteve 57,9%. Portanto, das 115 receptoras foram selecionadas em seu ciclo estral para receber embrião entre o D4 - D8, 24 destas éguas (21%) foram rejeitadas no momento da TE, sendo realizadas 91 inovulações (79%), Figura 01.

Pode-se observar na tabela 2 que das 192 éguas que apresentavam sistema genital com características desejáveis no momento da ovulação, 147 (92,45%) foram diagnosticadas como excelentes e boas no dia da inovulação, sendo assim de fundamental importância o acompanhamento diário do ciclo estral através da ultrassonografia do sistema genital das receptoras. Somando a um baixo descarte no momento da inovulação de 12 (7,55%), havendo diferença ( $P < 0,05\%$ ) entre elas.

Na mesma tabela, observa-se, ainda, que das 33 éguas indesejáveis no dia da ovulação, 4 delas (12,12%) foram avaliadas como tendo boas condições dos órgãos genitais no dia da inovulação e a grande maioria que já tinha sido descartada no momento da ovulação, 29 receptoras (87,88%), permaneceram classificadas como rejeitadas. Tais mudanças de classificação das receptoras entre o dia da ovulação e da inovulação, podem ser justificados pelo fato de que, entre a primeira e a segunda avaliação ocorreu tônus uterino, ausência de líquido ou edema intra-uterino ou a formação de corpos lúteos viáveis, responsáveis pela produção de progesterona, hormônio indutor das características do sistema genital na fase do diestro (Ginther, 2000; Hughes et al., 1972).

Das 4 inovulações realizadas em receptoras do grupo A, apenas 2 resultaram em prenhez (50%). No Grupo B, foram inovuladas 147 das 159 éguas consideradas aptas, das quais 106 tornaram-se prenhes, o que corresponde à taxa de 72% de prenhez. As restantes não foram inovuladas devido coleta negativa de embriões das respectivas doadoras nos dias previstos.

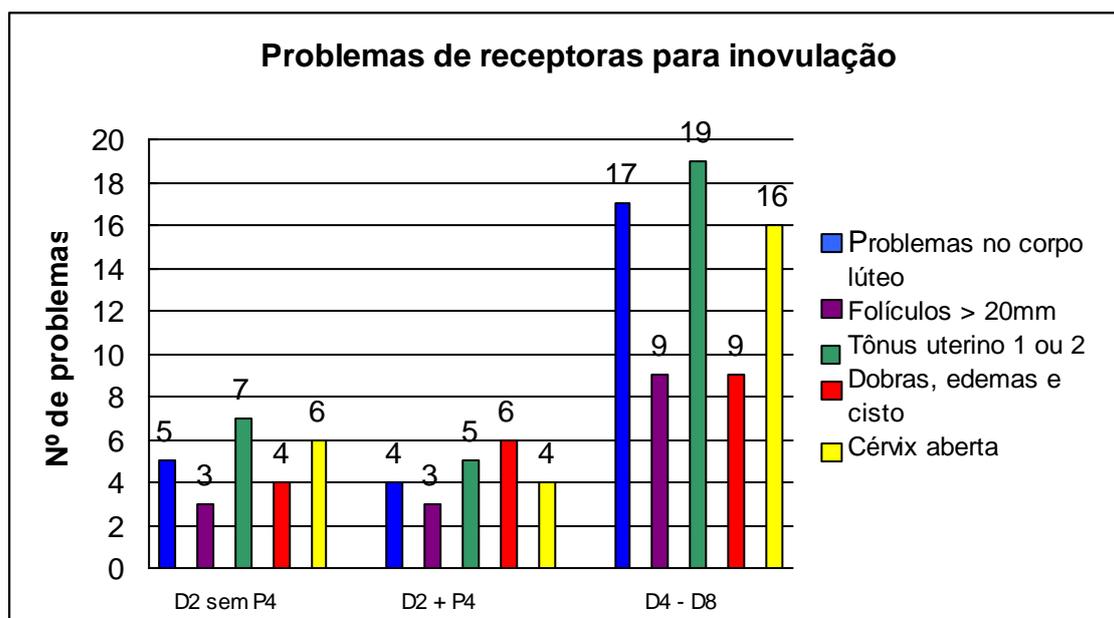
**Tabela 3.** Classificação de receptoras da raça Mangalarga Marchador, quanto às características dos seus órgãos genitais no dia ovulação em comparação com o dia da inovulação (n = 192 éguas).

Classificação dos órgãos genitais de éguas receptoras no dia da ovulação Número de casos (%)	Classificação dos órgãos genitais das receptoras no dia da inovulação Número de casos (%)	
	Excelentes ou bons	Marginalmente aceitáveis ou rejeitados
Grupo A - indesejáveis <sup>1</sup>	4 (12,12%)	29 (87,88%)
Grupo B - desejáveis <sup>2</sup>	147 (92,45%)	12 (7,55%)
Total (%) =	151 (78,64%)	41 (21,36%)

1- Características não desejáveis dos órgãos genitais na ovulação: a) tônus uterino classificado como 1, 3 e 4; b) presença de folículos com diâmetro maior que 20 mm c) ausência ou pouco de edema endometrial durante o estro ou/ e d) cérvix fechada. 2- Características desejáveis: a) tônus uterino 2; b) ausência de folículos com diâmetro maior que 20 mm c) ocorrência de edema endometrial durante o estro e d) cérvix aberta.

Com relação aos animais descartados, ou seja, que apresentavam sistema genital com características indesejáveis no momento da inovulação, classificou-se entre os 3 grupos analisados: problemas no corpo lúteo, folículos > 20mm, tônus uterino 1 ou 2, dobras, edemas, cisto endometriais e cérvix aberta (Figura 02).

As receptoras no D2 sem tratamento com progestagênio, foi o que teve um maior número de rejeição dos 13 animais selecionados, 8 receptoras foram desclassificadas apresentando vários problemas, apresentando neste grupo uma taxa de descarte de 62%, sendo 5 éguas inovuladas (38%) e somente uma (20%) obteve prenhez.



**Figura 2.** Problemas do trato genital encontrado nas receptoras da raça Mangalarga Marchador no momento da inovulação, descartando-as para a Transferência de embriões.

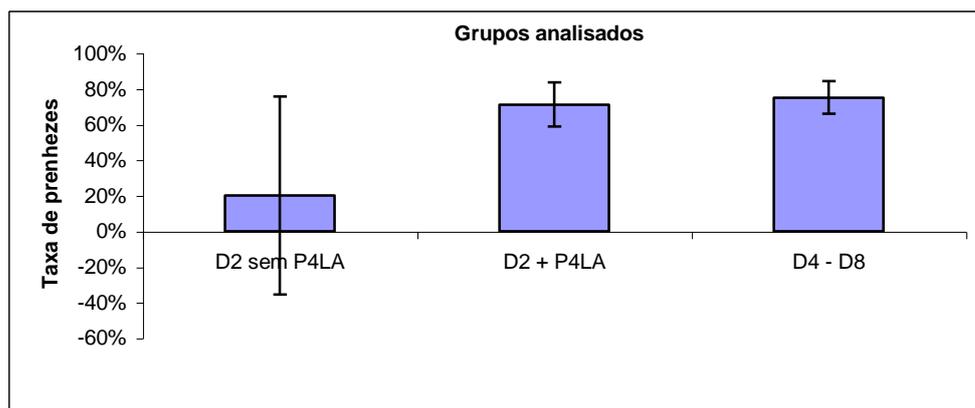
Dentre as 64 receptoras que foram tratadas com progesterona no dia da ovulação e destinadas a serem usadas no D2, 55 foram inovuladas e uma taxa de 14% (09) foi descartada, devido problemas apresentados no gráfico 2. Já o grupo de receptoras entre o D4-D8, 115 animais foram avaliados e 24 receptoras (21%) foram descartadas no momento da inovulação. Tal diferença de descarte entre os dois grupos não representa estatisticamente diferença significativa ( $P < 0,05$ ). Vale ressaltar que a quantidade de problemas demonstrado no gráfico 2 para os diferentes grupos de receptoras no momento da inovulação, significa dizer que um mesmo animal pode ter 1, 3 ou mais problemas.

Observa-se que a taxa de prenhez das receptoras do Grupo B foi significativamente ( $P < 0,05$ ) superior à taxa de prenhez das receptoras do Grupo A. Esses resultados demonstram que as receptoras classificadas como indesejáveis no dia da ovulação, podem, com segurança, serem previamente rejeitadas para a transferência de embriões nesse ciclo estral, o que, entra em concordância com Losinno e Alvarenga (2006). Por outro lado, das 135 receptoras do grupo B que no dia da ovulação foram classificadas como desejáveis, no momento da inovulação, 88 (65,19%) foram classificadas como excelentes e boas. Destas, 62 foram inovuladas, resultando uma taxa de prenhez de 79,03%, ou seja, 49 éguas prenhes. Desses dados infere-se que éguas do Grupo B, classificadas como excelentes ou boas no dia da inovulação, apresentaram melhor desempenho ( $P < 0,05\%$ ) com referência à taxa de prenhez em comparação com as receptoras do Grupo A, classificadas como excelentes ou boas.

As taxas de prenhez encontradas dentro deste trabalho, 50% no grupo A e 72% no grupo B, mostram que os índices do grupo B estão de acordo com as relatadas por Carnevale *et al.* (2000) que obtiveram taxas de 62,5 a 100%; 60 a 71% e 65,7%, respectivamente. Ressaltando que dentro do grupo B estão as categorias de éguas analisadas: receptoras inovuladas no D2 com  $P_4^{LA}$ ; receptoras inovuladas no D2 sem  $P_4^{LA}$ ; receptoras inovuladas D4 ao D8. Já as quatro receptoras inovuladas do grupo A, era a categoria de éguas ovuladas sem administração de  $P_4^{LA}$  entre os dias 4 e 8 após ovulação, portanto, a taxa de 50% encontrada no grupo A, se mostrou significativamente menor que a encontrada no grupo B, sendo portanto, considerada baixa quando comparada com as do trabalhos acima citados, com um porém, tais receptoras já tinham sido descartadas até o momento da ovulação e somente foram inovuladas pelo fato que no dia da TEE, havia tais receptoras sincronizadas.

Pate (1994) ressalta a importância de um corpo lúteo funcional, pois a produção de progesterona é crucial para proporcionar condições ideais e oportunidade de fertilização, justificando o baixo resultado para a taxa de prenhez nas receptoras inovuladas no D2, sem prévio tratamento com progestágeno (20%), resultado este que na análise estatística tende a zero, sendo um protocolo de utilização de receptoras neste estágio não recomendado. Mckinnon *et al.* (2000), acrescenta que a secreção contínua de progesterona é essencial para o início e a manutenção da gestação em fêmeas equinas até os 120 dias de gestação.

No grupo de receptoras inovuladas no D2, com administração de 1500 mg de  $P_4$  pós ovulação, a taxa de prenhez foi significativamente maior, 71%, indo a encontro dos resultados descritos por Caiado *et al.* (2007), onde a suplementação exógena com o progestágeno é capaz de antecipar e melhorar as condições do endométrio para uma possível gestação.



**Figura 3.** Taxa de prenhez dos três grupos experimentais: Receptoras inovuladas no D2 sem administração de  $P_4^{LA}$  (**D2 sem  $P_4^{LA}$** ); Receptoras inovuladas no D2 + 1500 mg  $P_4^{LA}$  (**D2 +  $P_4^{LA}$** ); Receptoras inovuladas do D4 ao D8 (**D4-D8**). A linha vertical representa a sobreposição dos intervalos de confiança, representando a similaridades entre os grupos. ( $P=0,05$ )

Squires et al. (1995), preconizaram a utilização de receptoras ovuladas um dia antes até três dias após a doadora, quando as coletas forem feitas no sétimo dia de ovulação da doadora, intervalo de quatro a oito dias de ovulação da receptora, enfatizando que existe uma grande flexibilidade no sincronismo entre doadora e receptora. Riera & McDonough (1993) utilizando receptoras com tempo de ovulação de cinco a oito dias, obtiveram taxa de gestação de 43% para transferência não cirúrgica, a mesma técnica utilizada no presente experimento. Pashen et al. (1993) utilizaram receptoras com um tempo de ovulação entre cinco a oito dias e obtiveram taxa de 61%.

Quando realizadas as inovulações em receptoras entre o quatro a oito dias após a ovulação, o índice de prenhez, representado na figura 03, foi de 75%, entrando em consonância aos melhores índices citados na literatura. Podemos verificar também que por meio da sobreposição dos intervalos de confiança ( $P=0,05$ ) calculado para as taxas de prenhez entre os dois últimos tratamentos em questão (D2 +  $P_4^{LA}$  e D4 - D8), os índices apresentavam estatisticamente iguais, o que permite concluir que não houve diferença estatística entre as inovulações em receptoras no D2 previamente tratadas e as receptoras entre o D4 ao D8.

#### 4 - Conclusão

Dentro da hipótese proposta pelo presente trabalho, ficou demonstrado a eficiência da administração de uma única dose de 1500 mg de  $P_4^{LA}$  no momento da ovulação de receptoras para a inovulação após dois dias, sendo mais uma ferramenta a ser empregada na técnica de transferência de embriões eqüinos.

#### 5 – Referências

ALLEN, W. R. (2001). Luteal deficiency and mortality in the mare. *Rep. Dom. Animal.*, 36: 121-131.

ALLEN, W.R., URWIN, V., SIMPSON, D.J., GREENWOOD, R.S., CROWHURST, R.C. e ELLIS, D.R. (1980.). Preliminary studies on the use of an oral progestagen to induce estrous and ovulation in seasonally anoestrous Thoroughbred mares. *Equine Vet. J.*, 12:141-145.

ALVARENGA, M. A . ; LANDIN e ALVARENGA, F. C. and MEIRA, C. (1993) Modification in the technique used to recovery equine embryos. *Equine Vet. J. Suppl.*, 15 : 111- 112.

ARRUDA, R. P.; VISINTIN, J. A.; FLEURY, J. J.; GARCIA, A. R.; CELEGHINI, E. C. C.; NEVES NETO, J. R. (2001). Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões eqüinos? *Braz. J. vet. Res. anim. Sci. São Paulo*, v. 38, n. 5, p. 233-239.

BRINGEL, B.A.; JACOB, J.C.F.; ZIMMERMAN, M. 2003. Biorelease progesterone LA 150 and its application to overcome effects of premature luteolysis on progesterone levels in mares. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.27, p.498-500.

CAIADO, J.R.C.; FONSECA, F.A.; SILVA, J.F.S. *et al.* Aplicação do flunixin meglumine antes da transferência não-cirúrgica de embriões em éguas da raça Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.12, n.1-3, p.11-15, 2005.

CAIADO J. R. C., FONSECA F. A., SILVA J. F. S., FONTES R. S., (2007). Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação R. Bras. Zootecnia. 36: 360-368.

CARNEVALE, E. M., RAMIRES, R. J., SQUIRES, E. L., ALVARENGA, M. VANDERWAL, L.D. K & MCCUE,P. M.(2000). Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology* 54:965-979.

CARVALHO, G. R. (2000). Estudo de alguns aspectos da transferência de embriões eqüinos. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa.

FLEURY, J. J. (1998a) O dia da colheita na taxa de recuperação embrionária em eqüinos em uma central de transferência de embriões comercial. *Arq. Fac. Vet. UFRGS Supl.* Porto Alegre, 26 , (1) : 268.

FLEURY,J.J.; PINTA A.J.; MARQUES, A.; LIMA, C.G.; ARRUDA, R.P (2001). 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.* 38:26-38

GASTAL, E. I.; GASTAL, M. O.; NOGUEIRA, G. P.; BERGFELT, D. R. e GINTER, O. J. (2000). Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentration and follicle deviation in mares. *Theriogenology* 53: 925-930.

GINTHER, O. J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *An. Rep. Sci.*, 60-61: 61-79.

HAFEZ, E. S.E.(2004). Reprodução animal. 7<sup>a</sup> ed. Ed. Manole. São Paulo. 509p.

HUGHES, J. P.; STABENFELDT, D. H.; EVANS, J. W. (1972). Clinical and endocrine aspects of the estrous cycle of the mare. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners. 119-152.

LOSINNO L. E ALVARENGA, M. A. (2006). Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. Acta Scientiae Veterinariae. 34: 39-49.

MCKINNON, A . O. e SQUIRES, E. L. (1988). Morfologic assesment of the equine embryo. J. Am. Vet. Med. Ass.,192, (3) : 401-406.

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

NEELY, D.P. (1988). Progesterone/progestin therapy in the brood-mare. Proc. Am. Assoc. Equine Pract., 88: 203-218.

PASHEN, R.L.; LACOMBES, F.A. e DARROW, M.D. (1993). The application of embryo transfer to polo ponies in Argentina. Equine Vet. Journal. Suppl., 15:119-121.

RIERA, F.L. e MCDONOUGH, J. (1993). Commercial embryo transfer in pólo ponies in Argentina. Equine Vet. Journal. Suppl., 15:116-118.

ROCHA FILHO A.N., PESSÔA M.A., GIOSO M.M., ALVARENGA M.A., (2004). Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. Anim. Reprod., 1:91-95.

SQUIRES, E.L. (1995). Equine embryo transfer and shipping of equine embryos. Ars veterinária. 11(2): 68-75.

SQUIRES, E. L.;CARNEVALE, E. M.; MCCUE, P.M. e BRUEMMER, J. E. (2003). Embryo technology in the horse. Theriogenology, 59:151-170.

SQUIRES, E. L.; SHIDELER, R. K.; VOSS, J. L. e WEBEL,S. K. (1983).Clinical applications of progestin in mares. C. C. E. Practing Vet. 5: 516-522.

TESTA, A.C.; CARMO, M.T.; ALVARENGA, M.A.(2005). Perda embrionária precoce em éguas receptoras de embrião em anestro tratadas com progesterona de longa ação. Acta Scntiae Veterinariae, 33:198

WEBEL, S.K. (1975). Estrous control in horses with a progestin. J. Anim. Sci., 41:385.