

**TAXA DE GESTAÇÃO EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR
INSEMINADAS PRÉ E PÓS-ÓVULAÇÃO**

JÚLIO CESAR FERRAZ JACOB

1997

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

TAXA DE GESTAÇÃO EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR
INSEMINADAS PRÉ E PÓS-OVULAÇÃO

JÚLIO CESAR FERRAZ JACOB

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:
DR. FLAMARION TENORIO DE ALBUQUERQUE

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina Veterinária - Área de
concentração em Fisiopatologia da
Reprodução e Inseminação Artificial.

SEROPÉDICA
RIO DE JANEIRO - BRASIL
AGOSTO, 1997

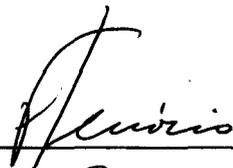
TÍTULO DA TESE

TAXA DE GESTAÇÃO EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR
INSEMINADAS PRÉ E PÓS-OVULAÇÃO

AUTOR

JÚLIO CESAR FERRAZ JACOB

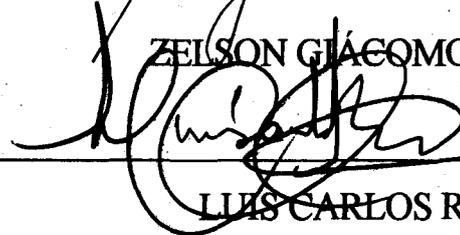
Tese aprovada em: 21 / 08 / 1997



FLAMARION TENÓRIO DE ALBUQUERQUE



ZELSON GIACOMO LOSS



LUIS CARLOS REIS

**A minha mãe Nilda,
A minha esposa Mayra,
A minha filha Erika.**

AGRADECIMENTOS

Obrigado meu Deus, por ter me concedido mais essa graça que foi desenvolver tal trabalho e por tudo que me proporcionou e nos proporciona, a vida, o trabalho, o companheirismo, o amor...

Os meus sinceros agradecimentos:

a minha mãe que soube criar e conduzir-me aos ensinamentos da vida, por permitir e dar condições para que eu chegasse até aqui, pois cheguei onde estou, graças aos seus esforços, estímulos, carinho e compreensão, me restando agora dar continuidade do que fez por mim;

a minha esposa e estagiária Mayra que soube enfrentar com amor e paciência as dificuldades que passamos, trabalhando aos sábados, domingos e feriados para a realização desse trabalho;

a minha filha Érika que ajudou-me nos fins de semana nos acompanhando no trabalho prático e também por ter suportado as horas ausentes em casa, sem ter a atenção merecida;

ao meu orientador Prof. Flamarion, o maior incentivador, pela confiança depositada em mim ao longo desses anos, pela paciência e amizade e agradeço a Deus por ter cruzado nossos caminhos;

Ao Prof. Carlos L. Massard por incentivar-me a fazer mestrado e indicar-me ao meu orientador;

A UFRRJ e ao Instituto de Zootecnia na pessoa do Diretor Nelson Jorge M. Matos e do Vice-diretor Carlos Alberto Sant'Just por terem aberto as portas do setor de eqüino nos dando total liberdade para trabalharmos;

Aos Funcionários do setor de eqüino, Mineiro, Luciano, Sr. Daniel, Sr. José e Nory, pela dedicação e paciência que dispensaram-me e sem eles o trabalho se tornaria muito difícil;

Ao estagiário e amigo Márcio Ribeiro pelo apoio e ajuda no controle reprodutivo, assim como os demais estagiários e monitores da Reprodução;

aos Professores José Eugênio Três e Vera Lúcia de Jesus, ao funcionário Reneu e aos colegas do curso de Pós-graduação;

ao Prof. Lauro Boechat Batista pela prestimosa ajuda na interpretação dos dados estatísticos;

a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão do curso de Pós-graduação, mas que foram ora omitidos;

a CAPES, pela bolsa de estudos concedida;

ao curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ na pessoa do ex-coordenador Prof. Advaldo Fonseca e a coordenadora Maria Estelita pela oportunidade concedida à mim de aumentar e aperfeiçoar meus conhecimentos.

MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA

Júlio César Ferraz Jacob, filho de Nilda Junqueira Ferraz e José Nilton Negreiros Jacob, nascido aos 16 de fevereiro de 1961 em São Lourenço MG..

Ingressou na UFRRJ em agosto de 1982 no curso de Medicina Veterinária, concluindo-o em janeiro de 1987.

Trabalhando como Médico Veterinário autônomo em Clínica Veterinária e assistência a Haras de Mangalarga Marchador, na Baixada Fluminense.

Ingressou no curso de mestrado em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia e Reprodução Animal, em março de 1996.

Junto com o professor Flamarion T. de Albuquerque, foi responsável pelo Setor de Eqüinos na Área de Reprodução da UFRRJ, durante as estações de monta 1994/95, 1995/96 e 1996/97.

Professor Substituto na UFRRJ/IZ/DRAA - Área de Reprodução Animal desde junho de 1996.

RESUMO

Objetivando verificar o efeito do momento da inseminação artificial (IA) sobre a taxa de gestação em éguas da raça Mangalarga Marchador, criadas no Instituto de Zootecnia da UFRRJ, 34 éguas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: G1 e G2. Todas as fêmeas tiveram seu trato genital examinado, diariamente por ultrasonografia e palpação via transretal e foram inseminadas com sêmen fresco e diluído. Dezenove animais do *grupo 1* (G1) foram inseminados, no terceiro e quinto dia de estro, porém quando a ovulação ocorreu antes do quinto dia, só foi realizada uma IA (IA pré-ovulação); no *grupo 2* (G2), com 15 animais, as inseminações foram realizadas, uma única vez, assim que se detectava a ovulação (IA pós-ovulação). No G1, 89,5% das fêmeas ficaram gestantes no primeiro ciclo estral e no G2, 73,3% ($p > 0.05$). Foram necessários 1,1 e 1,3 ciclos/concepção para que todas as fêmeas do G1 e G2 ficassem gestantes, respectivamente. Em 41 ciclos acompanhados, observou-se que 68,3% das ovulações ocorreram no ovário esquerdo e 31,7% no ovário direito. Estas ovulações ocorreram entre os dias 4,5 a 6 após início do cio com média populacional de $4,471 < \mu < 5,968$ dias ($p < 0,05$). O estudo mostrou a viabilidade da realização da inseminação em um período variável de zero a 24 horas pós-ovulação sem significativa redução da fertilidade.

Júlio Cesar Ferraz Jacob

Pregnant rate in pre and postovulation insemination in mares Mangalarga
Marchador

SUMMARY

With the objective of verifying the effect of the time of the artificial insemination (AI) over the pregnancy rate in the “Mangalarga Marchador” breed of mares, raised in the Zootecny Institute at the UFRRJ, 34 mares were randomly distributed into two groups: G1 and G2. All the mares had their genital tract examined daily by ultrasonography and by transrectal palpation, and they were all inseminated with fresh and diluted semen. Nineteen mares of *group 1* (G1) were inseminated on the third and fifth day of estrous, but when the ovulation had occurred before the fifth day, only one AI was performed (AI preovulation); in *group 2* (G2) whith 15 mares the inseminations were performed, only once, as soon as ovulation was detected (AI postovulation). In the G1 89.5% of the mares became pregnant at the first estral cycle and in G2 73.3% ($p>0.05$). It was necessary 1.1 and 1.3 cycles/conception in order to get all mares of G1 and G2 pregnant, respectively. In the 41 cycles we had followed, it was observed that 68.3% of ovulations occurred in the left ovary and 31.7% in the right ovary. These ovulations occurred among days 4.5 and 6.0 after the beginning of estrous, with a population average of $4.471 < 5.968$ days ($p<0.05$). This study has showed the viability of the insemination during a period that goes from zero to 24 hours postovulation without significant reduction of fertility.

ÍNDICE

	pag.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. CICLO ESTRAL.....	3
2.2. OVULAÇÃO.....	5
2.3. TRANSPORTE DO ÓVULO.....	6
2.4. VIABILIDADE DO ÓVULO.....	7
2.5. MOMENTO DO ACASALAMENTO OU INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA).....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
CONTROLE DO ESTRO.....	12
3.1.1. ÉGUAS RECÉM PARIDAS.....	12
3.1.2. ÉGUAS SOLTEIRAS.....	13

3.2. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	13
3.3. DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO.....	14
3.4. REPRODUTORES.....	14
3.5. ESTATÍSTICA.....	15
4. RESULTADOS.....	16
5. DISCUSSÃO.....	18
6. CONCLUSÕES.....	22
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

RELAÇÃO DE TABELAS

TABELA 1. Comparação do número de éguas gestantes em relação ao momento da inseminação artificial, após três ciclos consecutivos.....**pag. 16**

TABELA 2. Número de dias em cio para ocorrência da ovulação.....**pag. 17**

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Chave para classificação dos achados no exame ginecológico da égua.

Exame retal: Útero.....pag. 23

Ovários e folículos.....pag. 24

Exame vaginal:.....pag. 25

ANEXO 2. Chave para classificação dos sintomas externos de cio na égua.pag.26

ANEXO 3. Ficha de exame ginecológico na égua.....pag.27

1- INTRODUÇÃO

A criação de equinos no Brasil vem crescendo gradativamente, possivelmente devido ao fato do homem escolher o cavalo como forma de descontração, esporte e lazer, a fim de fugir do estresse, tensão e agressividade provocados pela vida urbana nos grandes centros. Uma das raças que mais tem se destacado é a Mangalarga Marchador, por ser um animal rústico e ao mesmo tempo dócil e fácil de ser manejado. Nos últimos anos o Mangalarga Marchador tem sido exportado para vários países da Europa, EUA, e diversos países da América Latina.

Atualmente a Associação Brasileira dos Criadores de Cavalos Mangalarga Marchador oficializou o uso da inseminação artificial (IA) entre os criatórios, o que trouxe inúmeros benefícios para a raça. A semelhança do que acontece com a espécie bovina, na espécie equina o rendimento da exploração se baseia numa fertilidade aceitável. A capacidade reprodutiva da égua, só pode ser aproveitada adequadamente, se existirem controle sistemático e programado da fertilidade e, com melhor aproveitamento, fazendo uso da inseminação artificial.

A IA tem por base a introdução do sêmen no trato genital da fêmea em um período adequado, de forma que o gâmeta masculino possa encontrar com o

feminino em um momento no qual ambos são viáveis. Quando a inseminação é realizada em uma fase pré-ovulatória, a fertilização dependerá essencialmente do tempo de viabilidade do espermatozóide no trato genital da égua, enquanto que na IA pós-ovulatória a fertilização dependerá da viabilidade do óvulo.

Para minimizar o número de IAs ou coberturas por concepção precisa-se determinar o melhor momento para que o sêmen seja depositado no trato genital da égua. Sabe-se que a ovulação nos eqüinos ocorre cerca de 24 a 48 horas antes do final do cio, mas a duração do período de estro é variável. O controle do desenvolvimento folicular pela palpação retal visando detectar a proximidade da ovulação, não tem sido um método seguro em virtude da variabilidade do tamanho e da consistência folicular à ovulação (HUGHES et al., 1972 e 1975; ALLEN, 1981). Tais limitações tem reduzido a possibilidade de inseminação daquelas éguas consideradas de “alto risco”, devido a possibilidade de infecção e até mesmo a de utilização de reprodutores de alto potencial genético, localizados a uma grande distância das matrizes e/ou quando necessitam servir um grande número de éguas durante a estação de monta, como nos consórcios de garanhões, além de reduzir o uso de garanhões com problemas adquiridos que não podem ser muito exigidos na monta natural (HUGHES et al., 1970; SILVA FILHO et al., 1984; PALHARES et al., 1988).

Diante deste quadro vários pesquisadores vêm buscando alternativas no sentido de reduzir ao máximo o número de IAs por égua em cio. Uma destas alternativas seria a IA a partir do momento em que a ovulação foi detectada (inseminação pós-ovulação), mas os resultados das pesquisas são ainda contraditórios, mostrando a necessidade de estudos adicionais, o que certamente trará benefícios para a equideocultura.

2-REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Ciclo estral.

NEELY et al. (1983) e DUKES (1996) definem ciclo estral como sendo o intervalo clínico desde o início de um estro até o início do próximo. Para HUGHES et al. (1975) o ciclo estral da égua é o período ocorrido entre uma ovulação até a ovulação subsequente, quando acompanhada de sinais de estro e/ou concentrações séricas de progesterona menor que 1ng/ml. A concentração de progesterona é incluída na definição porque ocasionalmente ocorre ovulação no meio do ciclo (ovulação diéstrica) quando os níveis de progesterona estarão elevados. Estas ovulações diéstricas não representam o final de um ciclo estral e podem ocorrer em 5% dos ciclos (DUKES, 1996).

O estro é a fase folicular onde os folículos contidos nos ovários desenvolvem -se e produzem estradiol. Este é o período em que a fêmea mostra sinais de comportamento de receptividade sexual ao garanhão e tem sua duração de 2 a 17 dias com média de 7 dias. O diestro, fase luteal em que o corpo lúteo

(CL) formado na cavidade colabada do folículo após ovulação produz progesterona. Nesta fase a fêmea rejeita sexualmente o macho. Sua duração é de 14 a 15 dias (HAFEZ, 1988; HUGHES et al., 1972; 1975; ALLEN, 1981; DAELS et al., 1993).

As fêmeas eqüinas são tradicionalmente conhecidas tanto no hemisfério norte como no sul como poliéstricas sazonais (HUGHES et al., 1972). A intensidade de exposição luminosa diária é o fator primário que controla esta atividade ovariana sazonal (NEELY et al., 1983). A luz age através do eixo pineal-hipotálamo-hipofisário regulando a liberação de FSH e LH e controlando a atividade sazonal ovariana. As éguas poliéstricas sazonais geralmente ciclam do início da primavera até final do verão.

Nos meses de inverno entram num período não cíclico anovulatório (anestro invernal). Além do anestro invernal tem-se o estro prolongado do período transicional entre as estações inverno-primavera e verão-outono e outras variações fisiológicas que podem ocorrer no ciclo estral da égua. A transição do anestro de inverno para os ciclos normais é gradual e frequentemente acompanhada por falsos cios, falha de maturação dos folículos e ciclos de duração irregular (MCKINNON & VOSS, 1993).

2.2-Ovulação.

O aparecimento de LH parece estar diretamente associado com a maturação final do folículo pré-ovulatório e o início da ovulação. Geralmente os folículos aumentam rapidamente em tamanho antes da ovulação, atingindo 35 a 45 mm, mas podem ovular normalmente com 25 a 60 mm. Pela palpação retal há um perceptível amolecimento do folículo antes da ruptura, mas não é bastante seguro como um guia clínico para determinar o momento da ovulação. A égua frequentemente exibe dor a palpação do ovário justamente antes ou após a ovulação (MCKINNON & VOSS, 1993). As éguas ovulam através da fossa de ovulação localizada na curvatura menor do ovário e não na periferia. Com a aproximação da ovulação, as fimbrias (infundíbulo) do oviduto expandem-se afim de cobrir a fossa ovulatória, facilitando a entrada do óvulo no oviduto. A ultrasonografia tem sido usada para detectar ovulações (GINTHER, 1995).

Trabalhos conduzidos por WITHERSPOON & TALBAT (1970) têm demonstrado que 92% das ovulações ocorrem entre 23:00 e 07:00 horas e somente 8% ocorrem entre 07:00 e 23:00 horas.

HUGHES et al. (1972; 1977), fazendo três palpações diárias observaram que 37% das ovulações ocorreram entre 24:00 e 08:00 horas; 24% das 08:00 as 16:00 horas e 39% das 16:00 a 24:00 horas , concluindo que a maioria das ovulações (76%) ocorrem entre 16:00 e 08:00 horas. Entretanto GINTHER et al. (1972); ABEM (1987); KLUG & ANDRES (1987) e PALHARES et al. (1988) não encontraram uma distribuição normal para as ovulações durante o dia e a

noite. VOSS (1972) sugere que o melhor momento para IA pré-ovulação é ao final do dia enquanto que BELLING (1984) acredita que a parte da manhã seria ideal para inseminação no período pós ovulação.

2.3-Transporte do óvulo.

No momento da ovulação as fimbrias do oviduto estão ingurgitadas com sangue e em íntimo contato com a superfície do ovário. A atividade contrátil das fimbrias remove os oócitos ovulados para a abertura abdominal do oviduto em forma de funil conhecida como infundíbulo. Através das contrações musculares e dos movimentos dos cílios da mucosa os oócitos são empurrados em direção ao útero (AUSTIN & SHORT, 1982; DUKES, 1996).

Na maioria das espécies o tempo de transporte dos oócitos é o mesmo, independente de estarem fertilizados ou não. Entretanto, isto não ocorre nos eqüinos, onde o óvulo não fertilizado permanece no oviduto semanas ou meses, permitindo ser, inclusive ultrapassado pelos embriões que penetram no útero ao redor do quinto ou sexto dia após ovulação. O mecanismo de transporte somente dos oócitos fertilizados, através do oviduto para o útero, permanece não esclarecido (OGURI & TSUTSUMI, 1972; AUSTIN & SHORT, 1982; MCKINNON & SQUIRES, 1988).

noite. VOSS (1972) sugere que o melhor momento para IA pré-ovulação é ao final do dia enquanto que BELLING (1984) acredita que a parte da manhã seria ideal para inseminação no período pós ovulação.

2.3-Transporte do óvulo.

No momento da ovulação as fimbrias do oviduto estão ingurgitadas com sangue e em íntimo contato com a superfície do ovário. A atividade contrátil das fimbrias remove os oócitos ovulados para a abertura abdominal do oviduto em forma de funil conhecida como infundíbulo. Através das contrações musculares e dos movimentos dos cílios da mucosa os oócitos são empurrados em direção ao útero (AUSTIN & SHORT, 1982; DUKES, 1996).

Na maioria das espécies o tempo de transporte dos oócitos é o mesmo, independente de estarem fertilizados ou não. Entretanto, isto não ocorre nos eqüinos, onde o óvulo não fertilizado permanece no oviduto semanas ou meses, permitindo ser, inclusive ultrapassado pelos embriões que penetram no útero ao redor do quinto ou sexto dia após ovulação. O mecanismo de transporte somente dos oócitos fertilizados, através do oviduto para o útero, permanece não esclarecido (OGURI & TSUTSUMI, 1972; AUSTIN & SHORT, 1982; MCKINNON & SQUIRES, 1988).

2.4-Viabilidade do óvulo.

A vida média do oócito eqüino após ovulação é variável, sendo de 6 a 8 horas para COLE & CUPPS (1980), 6 a 12 horas para NEELY et al. (1983) e SHIDELER & VOSS (1984) e 24 horas para AUSTIN & SHORT (1982). Segundo STANBEFELDT & EDQUIST (1984) o óvulo eqüino retém sua máxima viabilidade por aproximadamente 6 a 15 horas pós-ovulação.

HUHTINEN et al. (1996) cita que a fertilização ocorre 12 horas após ovulação, quando a inseminação ocorreu antes da ovulação.

O tempo de vida útil do espermatozóide no trato genital feminino varia de 0,5 a 7 dias dependendo do garanhão (BAIN, 1957). Para o transporte do espermatozóide e sua capacitação são necessárias cerca de 9 horas (HUHTINEN et al., 1996). Se a demora entre a ovulação e a fertilização for superior à vida fértil do óvulo, o desenvolvimento embrionário pode iniciar-se mas geralmente parece ser anormal e de curta duração (AUSTIN & SHORT, 1982).

BELLING (1984) e WOODS et al. (1990), também verificaram perda embrionária com IA pós-ovulação.

2.5 Momento do acasalamento ou inseminação artificial (IA).

Há uma grande divergência na literatura quanto ao momento ideal e número de acasalamentos ou inseminações em eqüinos.

Nos programas de monta natural e inseminação artificial tem sido tradicionalmente recomendado que as éguas sejam inseminadas no 2º ou 3º dia do estro, e então a cada dois dias até o seu término (VOSS & PICKETT, 1976).

Em 1979, VOSS et al., relataram que as taxas de prenhez foram aumentadas em éguas inseminadas várias vezes por ciclo. Por outro lado, tem sido verificado que o aumento da freqüência de inseminações pode baixar a fertilidade principalmente por aumentar os riscos de infecção bacteriana no trato reprodutivo da égua (KENNY et al., 1975; VOLKMANN & VAN ZYL, 1987). Entretanto, sob condições naturais, as éguas são acasaladas varias vezes, durante o mesmo estro alcançando boa fertilidade (BRISTOL, 1982).

PALMER (1986) appud AMANN & PICKETT (1987), concluiu que a inseminação a cada 48 horas comparado a 24 horas reduziu em 15% a taxa de prenhez. VOSS et al. (1982) observaram taxas de prenhez com sêmen a fresco no primeiro ciclo estral de 64,3% , 75% e 75% para éguas inseminadas 1 a 4; 5 a 12 e 12 vezes ou mais por ciclo, respectivamente.

Um prolongado intervalo da monta à ovulação ou da ovulação à monta resultou em reduzida percentagem de éguas gestantes e de defeitos do embrião (CHEVALIER & PALMER, 1982; GINTHER, 1993).

SALTZMAN (1940) reportou uma taxa de prenhez de 63% versus 72% para inseminação em uma fase pré e pós-ovulatória respectivamente.

Fazendo inseminação artificial durante a ovulação, ZIVOTKOV (1941) obteve 12% de prenhez e 50%, 2 a 10 h pós-ovulação.

CHENG (1962) logrou uma taxa de 85,7% de gestação obtida em éguas inseminadas pós-ovulação.

HUGHES & LOY (1970) obtiveram bons resultados com acasalamento natural acima de 12 h pós-ovulação.

Taxas de prenhez de 63% e 67% na primeira inseminação foi alcançado por ALIEV & OCHKIN (1979) realizando inseminações entre 2 a 12 e 13 a 24 horas pós-ovulação, respectivamente.

MARTIN et al. (1981) fizeram IA em éguas distribuídas em três grupos: pré-ovulação e pós-ovulação, pré-ovulação, pós-ovulação. Os melhores resultados foram obtidos com IA realizada após a ovulação.

ALLEN (1981) trabalhando com éguas pônei, obteve uma taxa de concepção de 76% com monta natural pós-ovulação.

Em 1984, BELLING relatou que com monta natural pós-ovulação obteve uma média de 1,45 estro por concepção. Em um primeiro ciclo obteve uma taxa de concepção de 74,0%, num segundo ciclo a taxa de concepção foi de 16,0%, no terceiro ciclo 5,1% e no quarto ciclo 4,1%.

Inseminações com sêmen congelado em período pré e pós-ovulação, resultaram em taxas de prenhez de 78,6% e 53,8%, respectivamente (FARIAS, 1985). Após constatar a ovulação, PAPA (1988), alcançou, em um ciclo estral, taxa de prenhez de 54,7%, usando sêmen congelado.

KOSKINEN et al. (1990) trabalhando com um grupo de 14 éguas pôneis sendo 12 éguas virgens com três anos e duas com cinco anos e utilizando IA pós-ovulação entre 0 a 27 horas obteve 46% de prenhez e 17% de perda embrionária. Em uma segunda parte de seu experimento utilizou três grupos de cinco éguas cada e obteve 100% de concepção naquelas inseminadas entre 6 a 12 horas e 12 a 18 horas após-ovulação. E no grupo de 18 a 24 horas após ovulação a taxa de fertilidade caiu para 40%.

WOODS et al. (1990), concluiu que melhores resultados na IA pós-ovulação ocorrem entre 0 a 6 horas que 18 a 24 horas.

DANTAS et al. (1993) alcançaram 68,7% de éguas gestantes com IA logo após a detecção da ovulação, fazendo-se palpação retal de 12 em 12 horas.

3-MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi desenvolvida na Área de Reprodução Animal e setor de Equinocultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, durante duas estações de monta consecutivas (outubro a março de 1994/1995 e 1995/1996), sendo que, na primeira estação utilizou-se 12 éguas e na estação seguinte 22 éguas da raça Mangalarga Marchador, primíparas e pluríparas.

O plantel da Universidade foi mantido em regime de pasto (*Brachiaria mutica*, *Panicum maximum*, *Cynodon dactylon*, *Paspalum notatum*, *Sporobolus poiretii*), recebendo sal mineral “Ad libitum” e as éguas com potro ao pé receberam diariamente, pela manhã, uma complementação de 2 Kg de ração com 12% de PB. O controle de endo e ectoparasitas foi realizado periodicamente.

Trinta e quatro éguas da raça Mangalarga Marchador, foram divididas, ao acaso, em dois grupos. Sendo que o grupo 01 era formado por 19 éguas e o grupo 02 por 15. O seguinte esquema de inseminação artificial foi adotado:

GRUPO 1 : A Inseminação foi realizada no terceiro e quinto dia de cio. Aquela fêmea que ovulou antes do quinto dia não se fez a segunda inseminação .

GRUPO 2 : Inseminação assim que detectou-se a ovulação. Isto significa que a IA pode ter ocorrido num período de zero a 24 horas pós-ovulação. (IA pós-ovulação)

3.1- Controle do Estro.

3.1.1. Éguas recém paridas.

A partir do sétimo dia pós-parto, as éguas foram rufiadas diariamente com o auxílio de um rufião vasectomizado, sem cópula, utilizando baia individual e/ou tronco de rufiação. Foi considerado dia zero quando a fêmea apresentou todos os sinais característicos de estro (Apêndice) e último dia quando estes sinais já não eram mais evidentes.

As éguas diagnosticadas em cio foram contidas em bretes individuais após inspeção da genitália externa e região perineal, em seguida foram palpadas via retal conforme descrito por MARTIN (1981) e submetidas ao exame ultrassonográfico (MOURA & MERKT, 1994; GINTHER, 1995). Os exames foram realizados diariamente entre as 07:00 e 09:00 hs. até a ovulação ter sido detectada.

3.1.2. Éguas solteiras.(Primíparas e Pluríparas).

A rufiação foi feita em grupo, num piquete, e em dias alternados. Aquelas com indício de cio, ou em casos duvidosos, passaram a ser rufiadas diariamente, e individual, seguindo o mesmo método empregado nas éguas paridas.

3.2. Inseminação Artificial.

Após contenção da cauda e higienização da vulva, um auxiliar abria os lábios vulvares, onde introduzia-se a mão revestida por uma luva plástica estéril, previamente lubrificada, fixando uma pipeta própria para IA em eqüinos até a porção mais cranial da vagina, onde, com o dedo indicador, localizou-se o óstio caudal da cervix por onde a pipeta foi introduzida por cerca de cinco a dez centímetros atingindo assim o corpo do útero onde se fez a deposição de 10ml de sêmen diluído, que estava em uma seringa adaptada na outra extremidade da pipeta.

3.3. Diagnóstico de gestação.

Após o término dos sinais de cio as éguas foram liberadas para o pasto, retornando à rufiação 18 a 22 dias após. Aquelas que apresentaram sinais de cio foram novamente controladas e inseminadas, conforme esquema adotado para seu grupo, nas demais fez-se o diagnóstico de gestação com o auxílio da técnica de ultra-sonografia e palpação retal. Repetindo-se os exames com 30 e 60 dias de gestação, a fim de observar a possível ocorrência de morte e absorção embrionária.

3.4. Reprodutores.

Utilizou-se sêmen de quatro reprodutores com fertilidade previamente comprovada, sendo três da UFRRJ/Instituto de Zootecnia e um de propriedade do Haras Taquaral, próximo à Universidade. A colheita do sêmen foi realizada, pelo método da vagina artificial modelo Hannover. Após retirada da fração gel o sêmen foi filtrado e diluído na proporção de uma parte de sêmen para duas partes do diluidor leite desnatado-glicose (KENNEY et al, 1975). Utilizou-se 10 ml do

sêmen assim diluído para cada égua, contendo sempre um número superior de 500 milhões de espermatozoides com movimento progressivo/dose.

3.5-Análise estatística.

Os dados colhidos foram submetidos a análise estatística utilizando o Teste Qui-Quadrado para verificar se a fecundação independe do tipo de tratamento usado, (GOMES, 1990).

4. RESULTADOS

Analisando a tabela 1 verifica-se que das 19 éguas inseminadas antes da ovulação 17 (89,5%) ficaram gestantes no primeiro ciclo e duas (10,5%) no segundo ciclo perfazendo um total de 100% de éguas gestantes após 2 ciclos estrais consecutivos, necessitando 1,1 ciclos/concepção. No grupo de animais inseminados em um período variável de zero a 24 horas após a ovulação 11 (73,3%), 3 (20%) e 1 (6,7%) conceberam após o 1º, 2º e 3º ciclo estral consecutivo, respectivamente, sendo necessário 1,3 ciclos/concepção.

Tabela 1 - Comparação do número éguas gestantes em relação ao momento da inseminação artificial, após três ciclos consecutivos.

CICLOS	PRÉ-OVULAÇÃO		PÓS-OVULAÇÃO	
	N*	GESTANTES	N*	GESTANTES
1º	19	17(89,5) ^a	15	11(73,3) ^a
2º	02	02	04	03
3º	--	--	01	01
TOTAL	21	19	20	15

N* número de ciclos (serviço)

^a P>0,05

A diferença observada entre o grupo de éguas inseminadas antes e após a ovulação, no primeiro ciclo não foi significativa ($P > 0,05$), isto é, o momento da inseminação, em relação a ovulação, não influenciou na taxa de gestação. Para os demais ciclos, devido ao número bastante reduzido de casos não foi aplicado nenhum teste estatístico.

Dos 41 ciclos estrais (Tab. 2) estudados verificou-se que a ovulação ocorreu entre $4,5 < \mu < 6$ dias ($p < 0,05$) após o início do cio. A frequência de ovulações para os ovários direito e esquerdo foram 13 (31,7%) e 28 (68,3%) respectivamente.

Tabela 2 - Número de dias em cio para ocorrência da ovulação

Nº dias em cio		1	2	3	4	5	6	7	≥8
Frequência	Pré-ovulação	-	-	1	2	5	7	3	3
	Pós-ovulação	2	2	5	1	5	2	1	2
Total		2	2	6	3	10	9	4	5

Para os animais inseminados no período pré-ovulatório foram necessárias 39 inseminações, significando 1,8 I.As./ciclo ou 2,05 I.As./égua. Para as éguas inseminadas pós-ovulação foram necessárias 20 I.As., significando uma I.A./ciclo ou 1,3 I.As./égua.

Nenhum caso de absorção embrionária foi observado nos grupos estudados, durante os primeiros 60 dias de gestação.

5. DISCUSSÃO

O ciclo reprodutivo da égua está sujeito a maior variabilidade de todos os animais domésticos de produção. A duração do estro é incerta e a ovulação ocorre 24 a 48 horas antes do seu término, estando, portanto, o momento da ovulação mais relacionado ao fim do que início do cio (HUGHES et al., 1972 e 1975; PACE & SULLIVAN, 1975; BELLING, 1984).

Tradicionalmente as éguas são inseminadas ou cobertas a partir do terceiro dia do cio, repetindo a cada dois dias até o seu término (VOSS & PICKETT, 1976), no entanto, tal esquema, em se tratando de cobertura ou IA com sêmen fresco diluído, não pode ser adotado quando existe alguma limitação quanto ao uso do reprodutor e quando se trabalha com fêmeas susceptíveis a infecção uterina ou também denominadas “alto risco” (HUGHES et al., 1970; KENNEY et al., 1975; SILVA FILHO et al., 1984; VOLKMANN & VANZYL, 1987; PALHARES et al., 1988). A IA após ovulação tem sido apontada como alternativa para reduzir o número de inseminações durante o estro, principalmente quando se utiliza sêmen congelado, uma vez que não se pode predizer o momento que a ovulação irá acontecer (MARTIN, 1981).

O número de vezes, assim como o momento ideal para o acasalamento ou inseminação artificial é discutido na literatura. Neste estudo um grupo de

fêmeas foi inseminada uma única vez, assim que se detectou a ovulação, e a taxa de gestação (73,3%), embora cerca de 16% inferior ao grupo inseminada várias vezes no período pré-ovulatório (89,5%), não diferiu estatisticamente ($p>0.05$). Apesar de não se poder comparar diretamente este resultado pois os momentos de inseminações são diferentes (pré-ovulatório *versus* pós-ovulatório) os resultados indicaram que, para este plantel, não há necessidade de aumentar o número de serviços quando estes forem realizados próximo da ovulação. Este parecer discorda das opiniões de VOSS et al. (1979 e 1982); BRISTOL (1982); PALMER (1986) citado por AMANN & PICKETT (1987) que observaram maior fertilidade quando se realiza várias inseminações durante o cio da égua.

VOSS et al. (1979), defendem o ponto de vista de se inseminar várias vezes durante o ciclo. VOSS et al. (1982) alcançaram índice de 75% quando o número de inseminações no primeiro ciclo estral, foi de cinco a doze vezes chegando em um grupo a um número de inseminações superior a doze. PALMER (1986) citado por AMANN & PICKET (1987) observou redução na fertilidade em cerca de 15% quando inseminações foram realizadas a cada 48 horas quando comparada com inseminação a cada 24 horas. Os resultados alcançados com inseminação em éguas da raça Mangalarga Marchador em período pré-ovulatório foi de 89,5% sendo superior àqueles alcançados por VOSS et al. (1982). A redução em cerca de 15% na fertilidade observado por PALMER (1986) citado por AMANN & PICKET (1987) só foi verificado entre os grupos inseminados no período pré e pós-ovulatório. Estas divergências observadas parecem indicar que outros fatores interferem na fertilidade da fêmea. A necessidade de IA a cada 12 horas ou a necessidade do

número de inseminações exceder a doze vezes sugere que os animais em questão possuem fertilidade inferior às éguas Mangalarga utilizadas neste experimento. A rusticidade destes animais parece contribuir para a sua boa fertilidade (CASLICK, 1937; ROBERTS, 1971).

Uma diferença entre os grupos pré e pós-ovulatório era esperada uma vez que o período de viabilidade do óvulo é bastante variado e inferior a 24 horas (COLE & CUPPS, 1980; AUSTIN & SHORT, 1982; NEELY et al., 1983; STANBEFELDT & EDQUIST, 1984; SHIDELER & VOSS, 1984), entretanto pode-se dizer que o sucesso alcançado na IA pós-ovulação decorre do fato que a maioria das éguas possivelmente tenham ovulado durante a noite, conforme observações de HUGHES et al. (1972), logo as inseminações foram realizadas dentro das primeiras 12 horas, período este de viabilidade do óvulo citado por NEELY et al. (1983); SHIDELER & VOSS (1984) e STANBEFELDT & EDQUIST (1984) e considerado com sendo adequado por ALIEV & OCHKIN (1979), KOSKINEN et al. (1990), WOODS et al. (1990) e DANTAS et al. (1993).

A taxa de gestação de 73,3% alcançada no grupo de éguas inseminadas após ovulação é semelhante àquela encontrada por SALTZMAN (1940), ALIEV & OCHKIN (1979), ALLEN (1981), BELLING (1984) e DANTAS et al. (1993), sendo ligeiramente inferior aos 85,7% citados por CHENG (1962) e superior aos resultados de FARIAS (1985) e PAPA (1988) que trabalharam com sêmen congelado e KOSKINEN et al. (1990) que obteve 46% de gestações em potras inseminações entre zero e 27 horas pós-ovulação. Esta diferença pode ser atribuída à utilização de potras em sua pesquisa, conforme

apontam CASLICK (1937), BURKHARDT (1948), VAN RENSBURG & VAN HEERDEN (1953), BAIN (1957) e MITCHELL (1971).

Dos 41 ciclos estrais estudados observou-se que 65,8% das ovulações ocorreram no ovário esquerdo. Estes resultados são ligeiramente superiores aos descritos por ANDREWS & MCKENZIE (1941), NISHIKAWA (1959), OSBORNE (1966), BELLING (1984), PALHARES et al. (1988) que detectaram cerca de 55,5% das ovulações neste ovário. Estas diferenças podem estar ligadas ao pequeno número de observações realizadas na presente pesquisa.

Entretanto ARTHUR & ALLEN (1972), BUTTERFIELD & MATHEUS (1979) não observaram diferenças significativas entre ovulações para o ovário direito e esquerdo.

Trabalhando com asininos, PALHARES et al. (1984) e HENRY et al. (1987), encontraram frequência de 77,0% e 61%, respectivamente, para o ovário esquerdo. Discordando de SILVA FILHO et al. (1986) ; VANDEPLASSECHE et al. (1981) não encontraram diferença estatisticamente significante entre os dois ovários.

6. CONCLUSÕES

Os resultados da presente pesquisa parecem indicar que:

- 1) A taxa de gestação nas éguas inseminadas no período pós-ovulação foi inferior ao do Grupo pré-ovulação, embora estatisticamente não significativa.

- 2) A inseminação de éguas pós-ovulação permite reduzir o número de inseminações em comparação com a inseminação pré-ovulação, para obter taxa de gestação semelhante.

ANEXO 1

CHAVE PARA CLASSIFICAÇÃO DOS ACHADOS NO EXAME GINECOLÓGICO DA ÉGUA

EXAME RETAL

ÚTERO

1. Tamanho

T I = pequeno, cornos aproximadamente da grossura de um polegar.

T II = médio, cornos aproximadamente da grossura do braço de criança.

T III = grande, cornos aproximadamente da grossura de um antebraço.

T IV = maior que um braço; grande curvatura pode ser envolvida com a mão.

T V = grande curvatura do útero não pode mais ser envolvido com a mão.

CC = cérvix em forma cilíndrica, à palpação assemelha-se a uma corda (p. ex. na gestação).

2. Simetria

S = cornos simétricos

AS = assimetria do corno esquerdo ou direito, se denomina segundo o grau de assimetria como:

+ = pouca assimetria;

++ = Para assimetria em casos de aumento de volume delimitado segundo o tamanho correspondente como **OG, OP, OGAN**, etc.

(ver abaixo), segundo a posição da assimetria no corno esquerdo ou direito entre parênteses antes do símbolo AS (p.ex. (++) AS = assimetria clara do corno esquerdo), respectivamente depois do símbolo (p. ex. AS (OG) = assimetria do tamanho de um ovo de galinha no corno direito).

3. Contratilidade

C I = flácido, pouca contratilidade.

C II = predisposição mediana de contrair-se lentamente.

C III = predisposição à contração rápida e forte (p. ex. estágio de sensibilização na gestação).

C IV = contração permanente.

4. Conteúdo

Indicação com palavras, p. ex. **líquido** (flutuação), **firme**, **caseiforme**; nos casos de gestação p. ex. , **estádio inicial de sensibilização**, **saquinho pequeno**, **de balão**, **de descenso**.

OVÁRIOS E FOLÍCULOS

Os diagnósticos serão anotados em um desenho , ver ficha.

1. Tamanho

Av = avelã , diâmetro aproximado 1 - 1,5 cm

C = cereja, diâmetro aproximado 2 cm

OP = ovo de pomba , diâmetro aproximado 3 cm

N = noz, diâmetro aproximado 4 cm

OG = ovo de galinha, diâmetro aproximado 5 - 6 cm

OPAT = ovo de pata, diâmetro aproximado 6 - 7 cm

OGAN = ovo de gansa, diâmetro aproximado 7 - 8 cm

P = punho, diâmetro aproximado 10 cm

Diagnósticos intermediários são simbolizados por um sinal adicional de + ou -- , respectivamente (p. ex. + OG)

2. Consistência dos folículos .

1 = duro, resistente

- 2 = tenso, flutuação palpável**
- 3 = boa flutuação, todavia tensa**
- 4 = flutuação flácida**
- 5 = parede enrugada (folículo recém eclodido).**

EXAME VAGINAL

1. Forma do óstio externo da cérvix

- C = cônica (normal, interestro, gestação)**
- R = roseta (patológica ou estro)**
- P = plana (estro ou patológica)**
- F = flácida, caída (estro ou patológica)**

2. Abertura do canal cervical (só se pode estimar)

- 0 = completamente fechada , tampão mucoso (gestação)**
- 1 = abertura permite a passagem de um canudo de refresco de 3 a 4 mm de diâmetro**
- 2 = abertura permite a passagem de um lápis (normal ou patológico, sem cio, sem gestação)**
- 3 = abertura para 1 a 2 dedos (início ou final de cio ou patológico)**
- 4 = abertura para 2 a 5 dedos (cio normal ou patológico)**

3. Coloração do óstio externo da cérvix e da mucosa vaginal

- A = pálida (gestação inicial ou patológica)**
- B = rósea (normal, sem cio)**
- C = hiperêmica (cio inicial ou patológica)**
- D = vermelho intenso (patológica)**

4. Grau de umidade do óstio externo da cérvix e da mucosa vaginal

- I = seca, pegajosa (gestação)**
- II = pouco úmida (sadia, sem brilho)**
- III = medianamente úmida, brilhante (cio iniciando ou terminando ou patológico)**
- IV = muito úmida (cio ou patológica)**

V = coleção de líquido (hiperestro, urovagina)

ANEXO 2

CHAVE PARA CLASSIFICAÇÃO DOS SINTOMAS EXTERNOS DE CIO NA ÉGUA

Os principais sintomas externos de cio são:

1. Passividade (reflexo de aceitação, a égua está disposta e estimula o garanhão (ou rufião). O contrário: **Recusa, agressividade.**

2. Eleva e coloca a cauda para o lado (O contrário: **coloca a cauda entre as pernas ou chicoteia com a cauda**).

3. Contrações do clítoris e eliminação de muco (o clítoris aparece bem visível, pode ser acompanhado pela eliminação de muco e/ ou urina. O contrário: **sem contrações do clítoris e/ou muco**).

Estes três sintomas serão avaliados separados e indicados nos casos **positivos** com “+”, nos casos **duvidosos** com “?” e nos casos **negativos** com “-”.

Exemplos:

+++ = passividade, eleva a cauda, contrai o clítoris e elimina muco (cio).

+ ? + = passividade, comportamento duvidoso com a cauda e contrai o clítoris (início ou final do cio).

--- = agressividade ou inquietude, coloca a cauda entre as pernas , não contrai o clítoris e nem elimina muco (a “ égua rejeita”, ou seja, não mostra sintomas externos de cio).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEM, W. Collection and evaluation of data relevant to fertility of trotter and warmblood mares at an Aicenter during the 1983 breeding season. *An. Breed. Abstr.* 55: 245-247. 1987.

ALIEV, A., OCHKIN, D. The optimum time of insemination. *An. Breed. Abstr.*, v.47, n.10, p.5273 - 5276. 1979.

ALLEN, W.E. Fertility in pony mares after post ovulation service. *Eq. Vet. J.*, v.13, n.2, p.134 -135. 1981.

AMANN, R.P. & PICKETT, B.W. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *Eq. Vet. Sci.*, 7 (3): 145 - 173. 1987.

ANDREWS, F.N., MCKENZIE, F.F. Estrus, ovulation and related phenomena in the mare. *Bull. Univ. Missouri Agric. Exp. Sta.* v.329: 1-117. 1941

ARTHUR, G.H., ALEEN, W.E. . Clinical observations on reproduction in a pony stude. *Eq. Vet. J.*, v.4, p.109-117. 1972.

AUSTIN, C.R., SHORT, R.V. *Reproduction in Mammals Cambridge.* Cambridge University Press, p.1-61. 1982.

BAIN, A.M. Estrus and infertility of the Thoroughbred mare in Australasia. *J. A. V. M. A.*, v.131, p.179-185. 1957.

BELLING, T.H.Jr. Postovulation breeding and related reproductive phenomena in the mare. *Eq. Pract.*, v.6, p.12-19, 1984.

BRISTOL, F. Breeding behaviour of stallion at pasture with 20 mares in synchronized oestrus. *J. Repr. Fertil.*, Cambridge, Suppl. 32, p.71-77, 1982

BURKHARDT, J. Some clinical problems of horse breeding. *Vet. Rec.* v.60, p.243-248. 1948.

BUTTERFIELD, R.M., MATHEUS, R.G.. Ovulation and the movement of the conceptus in the first 35 days of pregnancy in Thoroughbred mares. *J. Repr. Fertil. Suppl.* 27, p.447-452, 1979.

CASLICK, E.A. . The sexual cycle and its relation to ovulation with breeding records of the Thoroughbred mare. *Cornell Vet.* v.27, p.187-206, 1937

CHENG, P.L. The present situation of artificial insemination of horses in China and some investigations on increasing conception rate of mares and breeding efficiency of stallions. *Acta Vet. Zootech. Sinica* v.5, p.29 - 34, 1962.

CHEVALIER, F., PALMER, E. Ultrasonic echography in the mare. *J. Repr. Fertil.*, Suppl., 32: 423-430.1982.

COLE, H.H. & CUPPS, B.T. *Reproduccion de los animales domesticos.* Zaragoza, Acribia, 1980. 551 p.

DAELS, P.F., HUGHES, J.P. The normal estrous cycle. In: *Equine Reproduction, Philadelphia*, London, Ed. Lea & Febiger, v.121, p.132, 1993.

DANTAS, M. N., VALE FILHO, V.R., SILVA FILHO. J.M., et al. Efeito do controle folicular de 6 em 6 horas ou de 12 em 12 horas , sobre a fertilidade de éguas cobertas após a ovulação, In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1993. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Braileiro de Reprodução Animal, 1993vol. II, 380p. p.287.

DUKES, H.H. *Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos* : 11. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

FARIAS, N.D. *Inseminação artificial em eqüinos com sêmen congelado em macrotubos*. Santa Maria, UFSM, 1985, 69p. (Tese, Mestrado).

GINTHER, O.J., WHINTMORE, H.L., SQUIRES, E.L. Characteristics of estrus, diestrus, and ovulation in mares and effects of season and nursing. *A. J. V. R.*, v.33 n.10, p.1935-1939, 1972.

GINTHER, O.J. Reproductive efficiency, In: *Reproductive Biology of the Mare. Basic and applied aspects*. 2nd ed., Wisconsin, Equiservices, 1993. p. 499-562.

GINTHER, O.J. *Ultrasonic imaging and animal reproduction fundamentals*. Wisconsin, Equiservices, 1995 vol. 2. p. 23-152.

GOMES, F.P. *Curso de Estatística Experimental*. 13.ed. São Paulo: Nobel, 1990

HAFEZ, E.S.E. *Reprodução animal*. 4.ed. São Paulo: Manole, 1988 p.720

HENRY, M., FIGUEIREDO, A.E.F., PALHARES, M.S., et.al. Clinical and endocrine aspects of the oestrus cycle in donkeys (*Equus asinus*). *J. Repr. Fertil. Suppl.*, 35: 297-303. 1987.

HUGHES, J.P., LOY, R. G. Artificial insemination in the equine. *Cornell Vet. Rec.* v.69, p.463 - 475. 1970.

HUGHES, J.P., STABENFELDT, G.H., EVANS, J.W. Estrus cycle and ovulation in the mare. *J.A.V.M.A.*, v.161, p.1367-1374. 1972.

HUGHES, J.P., STABENFELDT, G.H., EVANS, J.W. The oestrus cycle of the mare . *J. Rep. Fertil.*, Suppl. 23, p.161 - 166. 1975.

HUGHES, J.P., STABENFELDT, G.H., EVANS, J.W. The oestrus cycle of the mare and its uterine control. *Austr. Vet. J.*, 53, 1977.

HUHTINEN, M., KOSKINEN, E., SKIDMORE, J.A., et. al., Recovery and quality of embryos from mares inseminated after ovulation. *Theriogenology*, v.45, p.719- 726. 1996.

KENNEY, R.M., BERGMAN, R.V., COOPER, W.L., et. al., Minimal contamination techniques and preliminary findings. In: *Am. Assoc. Eq. Pract.*, 1975. Proceedings: p. 327-336.

KLUG, E. Artificial insemination in horse in West Germany. *5th Ann. Congr. Brit. Eq. Vet.* Cambridge. 1976.

KLUG, E., ANDRES, E.F., Study on the diagnostic determination of the time of ovulation in the mare. *An. Breed. Abstr.*, v.55, 247. 1987.

KOSKINEN, E., LINDEBERG, H.K., RUOTSALAINEN L., et al., Fertility of mares after postovulatory insemination. *J. V. M. A.*, v.37, p.77-80. 1990.

MARTIN, J.C., *Regulation of the oestrus cycle, particularly oestrus synchronisation, in connection with artificial insemination in the horse.* Hannover, 1980, Thesis (Doutorado Med. Vet.), Tieraerztliche hochschule Hannover, 184p. apud Anim. Breed. Abstr., 49: 3703, 1981.

MCKINNON, A.O. & VOSS, J.L. , 1982 *Equine Reproduction.* Philadelphia, Lea & Febiger, 1993 ,1137p.

MCKINNON, A.O. & SQUIRES, E.L. Morphologic assessment of the equine embryo. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, 192 (3): 401 - 406, 1988.

MITCHELL, D. Early fetal death and a serum gonadotrophin test for pregnancy in the mare, *Can. Vet. J.* v.12, p.41-44, 1971.

MOURA, J.C.A., MERKT, H., *A ultrassonografia na reprodução eqüina.* Salvador - BA: Univ. Americana, 1994, 116p.

NEELY, D.P., LIU. I.K.M., HILLMAN, R.B., *Equine Reproduction Hoffmann.* New Jersey: La Roche, 1983, 90p.

NISHIKAWA, Y., *Studies on reproduction in horse*. Tokyo: Japan Racing Ass., 1959. 340 p.

OGURI, N., TSUTSUMI, Y. Nonsurgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. *J. Repr. Fertil.*, v.31, p.187-195, 1972.

OSBORNE, E.V., An analysis of the pattern of ovulation as it occurs in the annual reproductive cycle of the mare in Australia. *Aus Vet. J.*, v.42, p.149-154, 1966.

PACE, M.M., SULLIVAN, J.J., Effect of timing of insemination, numbers of spermatozoa and extender components on the pregnancy rate in mares inseminated with frozen stallion semen. *J. Repr. Fertil. Suppl.* 23, p.115 - 121. 1975.

PALHARES, M.S., HENRY, M., FIGUEIREDO, A.E.F. Alguns parâmetros do ciclo estral em jumentos. In: ENCONTRO DE PESQ. DA ESCOLA DE VET. DA UFMG., 1984. *Anais...* Belo Horizonte: Nucleo de Assessoramento à Pesquisa/ 1984 vol. II. UFMG. p.40. 1984.

PALHARES, M.S., Inseminação artificial em eqüinos incluindo transporte de sêmen. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1988. *Anais...* Belo Horizonte, p.226-247.

PALMER, E. (1986) apud AMANN, R.P., PICKETT, B.W. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *Eq. Vet. Sci.*, 7 (3): 145 - 173, 1987.

PAPA, F.O. Congelamento do sêmen e inseminação artificial. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1988. *Anais...* Belo Horizonte, p.75-79.

ROBERTS, S.J. Veterinary obstetrics and genital diseases. *Theriogenology*. New York, Itchaca. 1971.

SALTZMANN, A. A. Insemination of mares after ovulation. *An. Breed. Abstr.*, v.8, 16, 1940.

SHIDELER, R.K., VOSS, I.L. Managment of the pregnant mare and newborn foal. *Fort Collins An. Repr. Laboratory, C.S.V.*, 43p. 1984.

SILVA FILHO, J.M., BRANDÃO, M., MARCATLI NETO, A., et.al., 1984. Sincronização deaios e inseminação artificial. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 1984. *Anais...* Belo Horizonte: Soc. Bras. de Zootec., 1984. p 84.

SILVA FILHO, J. M. et al.. 1986. Avaliação da fertilidade de jumentas da raça Pega, cobertas após a ovulação. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* Belo Horizonte, v.10, n.3, p.165-177. 1986.

STABENFELDT, G. H., EDQVIST, L., Female reproductive processes. In: *Dukes Physiology of Domestic animals*, 10 ed., M. J. Swenson, Ithaca: Cornell University Press, 822p. 1984.

VANDEPLASSECHE, G.M., WESSON, J.A., GINTHER, O.S., *Behavioral, follicular and gonadotropin changes during the estrous cycle in donkeys*. *Theriogenology*, 16:239-49, 1981.

VAN RENSBURG, VAN HEERDEN, Infertility in mares caused by ovarian dysfunction. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v.26, p.285-313. 1953.

VOLKMANN, D.H., VAN ZYL, D., Fertility of stallion semen frozen in 0,5ml straws. *J. Repr. Fertil. Suppl.* 35, p.143-148. 1987.

VOSS, J. L. , Doctor to Doctor Seminar, In: Equine Infertility, ed by Jackson, Kenilworth, N. J. , Shering Corp, June 26, 1972, pp 9, 10, 40.

VOSS, J.L., PICKETT, B.W. Reproductive management of the brood, mare. Fort Collins. Colorado State University, Exp. Sta. An. Repr. Lab.(Gen. Series Bull, 961). 1976.

VOSS, J.L., PICKETT, B.W., SQUIRES, E.L., et al., Effects of synchronization and frequency of insemination on fertility in mares. *J. Repr. Fertil.* Proceedings of the International Symposium on Eq. Repr. v.2, Davis, Supl. 27: p.257-261.1979.

VOSS,J.L., SQUIRES, E.L., PICKETT, B.W., et al. Effect of number and frequency of inseminations on fertility of mares. *J. Repr. Fertil.* Proceedings of the International Symposium on Eq. Repr. 3, Sydney, Supl. 32: p.53-57, 1982.

ZIVOTKOV, H.F. The efficacy if mating and insemination of mares during or after ovulation. *Sovetsk. Zootech.* v.1: p.108-109. Appud. *An. Breed. Abstr.* v.9: p.303, 1941.

WITHERSPOON, DON.M., TALBOT, R.B. Nocturnal ovulation in the Equine Animal. *Vet. Record*, v.87, p.302-304. 1970.

WOODS, J., BERGFELT, D.R., GINTHER, O.J. Effects of time of insemination relative to ovulation pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. Eq. Vet.J., v.22, p.410-415.1990.