

FACULDADE



Faculdade Gennari e Peartree

BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

LEONARDO MARTINS ESCOLA

BIOTECNOLOGIAS APLICADAS A REPRODUÇÃO DE EQUÍDEOS

**Pederneiras – SP
2023**

FACULDADE



Faculdade Gennari e Peartree
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

LEORNARDO MARTINS ESCOLA

BIOTECNOLOGIAS APLICADAS A REPRODUÇÃO DE EQUÍDEOS

**Pederneiras – SP
2023**

FACULDADE

FGP

Faculdade Gennari e Peartree
LEONARDO MARTINS ESCOLA

BIOTECNOLOGIAS APLICADAS A REPRODUÇÃO DE EQUÍDEOS

Orientadora: Dra. Raissa Oliveira Leite

Trabalho apresentado à Faculdade Gennari e Peartree - FGP, como parte das obrigações para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

**Pederneiras – SP
2023**

FACULDADE



Faculdade Gennari e Peartree

Ficha catalográfica: **última coisa para solicitar antes da impressão**

FACULDADE



Faculdade Gennari e Peartree

LEONARDO MARTINS ESCOLA

BIOTECNOLOGIAS APLICADAS A REPRODUÇÃO DE EQUÍDEOS

BANCA EXAMINADORA:

Orientador: Titulação e nome completo

Examinador 1: Titulação e nome completo

Examinador 2: Titulação e nome completo

PEDERNEIRAS, _____ de _____ de 2023.

DEDICATÓRIA

Dedico a minha família, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo apoio incondicional e amor que transcende em palavras. Agradeço especialmente aos meus pais, sacrifícios e ensinamentos moldaram o profissional e a pessoa que sou hoje.

Aos meus professores e mentores, que não apenas compartilharam seu conhecimento, mas também me inspiraram a buscar a excelência e a paixão pela Medicina Veterinária. Cada aula, cada conselho, cada desafio superado, contribuíram significativamente para a minha formação.

Aos meus amigos, por todos os momentos de alegria e descontração que equilibram longas horas de estudo e trabalho. Sua presença e apoio foram essenciais para enfrentar os desafios e celebrar as conquistas.

E, finalmente, aos animais, que sempre foram minha maior fonte de inspiração e motivação. Através deles, aprendi sobre resiliência, compaixão e o verdadeiro significado de cuidar. Que minha carreira seja um tributo a todos os seres que dedicaram minha vida para proteger e curar.

RESUMO

O Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "Biotecnologias Aplicadas à Reprodução de Equídeos" aborda as técnicas e inovações no campo da biotecnologia reprodutiva específica para equinos. O estudo detalha como essas tecnologias modernas estão transformando a criação e a conservação de raças equinas, oferecendo novas possibilidades para superar desafios reprodutivos e melhorar as linhagens. O trabalho começa com uma revisão das principais biotecnologias utilizadas na reprodução equina, como a inseminação artificial, que permite a utilização de sêmen de garanhões de alta qualidade independentemente de sua localização geográfica. A transferência de embriões é destacada como uma técnica que possibilita a reprodução de éguas de alto valor genético, sem afetar suas carreiras competitivas ou comprometer sua saúde. Além disso, o estudo explora técnicas mais avançadas, como a fertilização in vitro, incluindo a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI), que se mostra promissora para casos de infertilidade ou uso de sêmen em quantidade limitada. O trabalho também aborda a criopreservação de embriões e gametas, uma técnica crucial para a conservação genética e a gestão de rebanhos. O impacto dessas biotecnologias na genética equina é um tema central, com discussão sobre as implicações éticas, econômicas e de bem-estar animal. O trabalho enfatiza como essas tecnologias não apenas melhoram a eficiência reprodutiva, mas também contribuem para a preservação de raças raras e o aprimoramento genético. Finalmente, o trabalho conclui ressaltando a importância da pesquisa contínua e do desenvolvimento de novas técnicas para superar as limitações existentes e ampliar ainda mais as possibilidades no campo da reprodução equina. A integração dessas biotecnologias representa um avanço significativo para a indústria equestre, com impactos positivos tanto na criação comercial quanto na conservação de equídeos.

Palavras-chave: Biotecnologia; Equinos; Reprodução.

ABSTRACT

The Course Completion Work entitled "Biotechnologies Applied to Equine Reproduction" addresses techniques and innovations in the field of reproductive biotechnology specific to horses. The study details how these modern technologies are transforming the breeding and conservation of equine breeds, offering new possibilities to overcome reproductive challenges and improve bloodlines. The work begins with a review of the main biotechnologies used in equine reproduction, such as artificial insemination, which allows the use of high quality stallion semen regardless of their geographic location. Embryo transfer is highlighted as a technique that allows the reproduction of mares with high genetic value, without affecting their competitive careers or compromising their health. In addition, the study explores more advanced techniques, such as in vitro fertilization, including Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI), which shows promise for cases of infertility or the use of limited semen. The work also addresses the cryopreservation of embryos and gametes, a crucial technique for genetic conservation and herd management. The impact of these biotechnologies on equine genetics is a central topic, with discussion on the ethical, economic and animal welfare implications. The work emphasizes how these technologies not only improve reproductive efficiency, but also contribute to the preservation of rare breeds and genetic improvement. Finally, the work concludes by highlighting the importance of continuous research and the development of new techniques to overcome existing limitations and further expand possibilities in the field of equine reproduction. The integration of these biotechnologies represents a significant advance for the equestrian industry, with positive impacts on both commercial breeding and equine conservation.

Keywords: Biotechnology; Equines; Reproduction.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO | i |
| ABSTRACT | ii |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 4 |
| 2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL | 9 |
| 2.2 VANTAGENS E DESVANTAGENS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL | 16 |
| 2.3 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO | 17 |
| 2.4 VANTAGENS E DESVANTAGENS DA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO | 19 |
| 2.4 MANEJO SANITÁRIO E NUTRICIONAL | 20 |
| 2.5 INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDES | 21 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| 3.1 DEFINIÇÃO DO ESCOPO | 23 |
| 3.2 BUSCA E SELEÇÃO DE FONTES | 23 |
| 3.3 COLETA E ORGANIZAÇÃO DE DADOS | 23 |
| 3.4 ANÁLISE CRÍTICA DA LITERATURA | 23 |
| 3.5 SÍNTESE E REDAÇÃO | 24 |
| 3.6 REVISÃO E AJUSTES | 24 |
| 3.7 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS | 24 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 25 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 30 |
| 6. REFERÊNCIAS | 31 |

1. INTRODUÇÃO

A criação de cavalos no Brasil, apesar de não ser amplamente popular no setor agrícola, tem experimentado um crescimento anual de cerca de 12%. Este segmento se destaca como um dos mais rentáveis no agronegócio, mantendo-se resiliente diante da recente crise econômica que afetou o país. O mercado equino movimenta bilhões no agronegócio brasileiro, impulsionado por eventos como competições de marcha, corridas e exposições. Além disso, há um mercado crescente para a venda de cavalos destinados a diferentes propósitos, incluindo lazer, esportes e trabalho (ALVARENGA, 2012).

No Brasil, a criação de equinos é responsável pela geração de aproximadamente 3 milhões de empregos, tanto diretos quanto indiretos, destacando-se como um setor relevante na economia nacional. Em 2014, o número de equinos no país foi estimado em 5 milhões, com uma distribuição especializada principalmente em Minas Gerais e no Rio Grande do Sul. Esse número aumentou para 5,6 milhões em 2016, evidenciando o crescimento e a importância desse setor no mercado interno. O Brasil lidera a produção de embriões de cavalos globalmente, detendo 43% da participação de mercado, à frente da Argentina e dos Estados Unidos, que possuem 29% e 18% respectivamente. No âmbito da reprodução equina, o papel do médico veterinário é valorizado não apenas pela aplicação de biotecnologias reprodutivas convencionais, mas também pelo gerenciamento de águas com dificuldades reprodutivas e pelo tratamento de doenças do trato reprodutivo em garanhões (DA SILVA, 2018).

Biотecnologia refere-se à utilização de seres vivos, seus componentes ou sistemas biológicos em aplicações tecnológicas. O objetivo é criar ou alterar produtos e processos para especificações específicas. O conceito atual de biotecnologia surgiu com a descoberta da estrutura do DNA em 1953 e o desenvolvimento da tecnologia de DNA recombinante na década de 1970. Essa área moderna da biotecnologia se concentra no uso de informações genéticas diretamente do DNA para avanços tecnológicos. Dentro do setor de produção animal, a biotecnologia desempenha um papel crucial para melhorar a qualidade

dos alimentos de origem animal, aumentar a eficácia dos processos reprodutivos, promover a sustentabilidade do sistema produtivo e melhorar a produção de alimentos. Entre os avanços fornecidos pelo uso de técnicas biotecnológicas estão a criação de vacinas recombinantes para a prevenção de doenças em animais como ovinos, suínos, bovinos e aves, o desenvolvimento de hormônios de crescimento, e a realização de testes genéticos de DNA para selecionar animais com genótipos superiores, organizações ao aprimoramento genético (DYCE, 2010).

A aplicação da biotecnologia na reprodução animal está crescendo em popularidade, especialmente devido à capacidade dos gametas e embriões de tolerar a manipulação fora de seu ambiente natural, contanto que sejam mantidos em condições específicas. Isso torna os candidatos ideais para técnicas biotecnológicas que visam superar as barreiras naturais de reprodução em diferentes espécies. Entre as práticas reprodutivas biotécnicas, a inseminação artificial com sêmen fresco, resfriado ou congelado e a transferência de embriões são comuns em equinos. Essas técnicas estão sendo cada vez mais adotadas com o objetivo de maximizar o controle sobre a reprodução, aumentar a quantidade de descendentes de um único animal e aprimorar características zootécnicas. Isso atende às demandas tanto de associações específicas quanto dos proprietários (BETTENCOURT, 2018).

A presente pesquisa girou em torno da seguinte problemática de pesquisa: "Quais são os impactos e a eficácia das biotecnologias aplicadas à reprodução de equídeos na melhoria da qualidade genética, aumento da taxa de fertilidade, e na superação de desafios reprodutivos inerentes à espécie? O objetivo geral do presente trabalho foi o de investigar os efeitos e a eficiência das biotecnologias aplicadas na reprodução de equídeos, com foco em avaliar como essas inovações apresentam para a melhoria da qualidade genética e aumento das taxas de fertilidade, além de analisar como superam desafios reprodutivos específicos da espécie. O estudo também visa entender a transformação das práticas de manejo reprodutivo no setor equino e examinar as implicações éticas, econômicas e ambientais resultantes do uso intensificado dessas tecnologias (FLEURY, 2007).

Os objetivos específicos desta pesquisa são: primeiramente, analisar detalhadamente as diferentes biotecnologias utilizadas na reprodução de equídeos, como a inseminação artificial, fertilização in vitro e transferência de embriões, avaliando suas taxas de sucesso e impacto na melhoria genética. Em seguida, investigue o aumento da eficiência reprodutiva e da fertilidade em águas fornecidas por essas biotécnicas, identificando os fatores críticos que influenciam seus resultados. Além disso, pretende-se examinar as mudanças nas práticas de manejo reprodutivo em fazendas e centros de criação de equídeos devido à implementação dessas tecnologias. Outro objetivo é entender as implicações econômicas, considerando custos e benefícios, e as questões éticas envolvidas no uso intensificado dessas biotecnologias, incluindo preocupações com o bem-estar animal e impactos ambientais. Por fim, objetiva-se desenvolver recomendações para otimizar o uso dessas tecnologias na reprodução equina, visando a sustentabilidade e a eficácia a longo prazo no seto (FUTINO, 2005).

A relevância desta pesquisa reside na crescente adoção de biotecnologias na reprodução equina, uma prática fundamental para a melhoria genética e aumento da produtividade no setor. Com o Brasil sendo um dos líderes mundiais na produção de embriões equinos, compreender as nuances dessas tecnologias se torna crucial para manter e melhorar a posição competitiva do país nesse mercado. Além disso, o estudo oferece insights importantes sobre as implicações éticas e ambientais dessas práticas, aspectos fundamentais em um cenário de crescente conscientização sobre o bem-estar animal e a sustentabilidade. Por fim, esta pesquisa pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de estratégias mais eficientes e responsáveis no manejo reprodutivo de equídeos, beneficiando não apenas o setor econômico, mas também o bem-estar animal (HINRICHS, 2012).

2. REVISÃO DE LITERATURA

A criação de cavalos no Brasil, apesar de não ser muito popular no setor agrícola, tem experimentado um crescimento anual de cerca de 12%. Este segmento se destaca como um dos mais rentáveis no agronegócio, mantendo-se resiliente diante da recente crise econômica que afetou o país. O mercado equino movimentava bilhões no agronegócio brasileiro, impulsionado por eventos como competições de marcha, corridas e exposições. Além disso, há um mercado crescente para a venda de cavalos destinados a diversos fins, incluindo lazer, esportes e trabalho. O avanço da indústria equestre está intimamente relacionado com a crescente demanda por animais de alta qualidade zootécnica, o que tem impulsionado a adoção de métodos de reprodução assistida e biotecnologias nos criadouros de cavalos. Técnicas como inseminação artificial, transferência de embriões e o uso da ultrassonografia têm se mostrado ferramentas eficazes para acelerar o aprimoramento genético dos rebanhos (ALVARENGA, 2012).

As fêmeas são categorizadas como poliéstricas estacionais, já que manifestam sua época de reprodução durante a primavera e o verão. Três elementos fundamentais são responsáveis pela natureza sazonal dos ciclos estrais em águas (BETTENCOURT, 2018):

1. **Nutrição:** A disponibilidade e qualidade dos alimentos desempenham um papel crucial na regulação do ciclo reprodutivo em animais. Quando as fêmeas têm acesso a uma nutrição adequada, estão mais propensas a entrar no estro e conceber.
2. **Temperatura:** A temperatura ambiente pode influenciar o ciclo reprodutivo. Muitas espécies têm uma estação reprodutiva específica relacionada ao clima mais favorável para a sobrevivência dos filhotes.
3. **Fotoperíodo:** A quantidade de luz durante o dia, conhecida como fotoperíodo, também é um fator importante. Em muitos animais, a mudança na duração do dia, especialmente o aumento da luz do dia durante a primavera e o verão, desencadeia a atividade reprodutiva.

Durante a transição do anestro para o poliestro fisiológico, a égua exibe variações nos sinais comportamentais de estro, sem que haja impacto

significativo nas estruturas foliculares ou ovulares. Em um ambiente natural, períodos de iluminação de 15 a 16 horas por dia influenciam o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal, resultando na supressão da produção de melatonina. A liberação de melatonina pela glândula pineal desencadeia a produção de gonadotrofina (GnRH) sem hipotálamo. A regulação da frequência e amplitude da liberação de GnRH pelo hipotálamo influencia a produção de hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) pela hipófise. Os receptores ovarianos respondem ao FSH e LH, promovendo o recrutamento, seleção e dominância folicular (CINTRA, 2014).

O sistema neuroendócrino reprodutivo é essencial para a saúde reprodutiva de ambos os sexos, machos e fêmeas. Este sistema precisa manter uma interação equilibrada e coordenada entre o hipotálamo, a hipófise e as gônadas. Esta sincronização é crucial para que os animais possam expressar plenamente seu potencial reprodutivo. Qualquer perturbação nesse sistema pode resultar em problemas reprodutivos. O controle neuroendócrino é realizado através da comunicação entre células neuroendócrinas e endócrinas, utilizando neurotransmissores como mensageiros principais. Entre esses, os hormônios e neurohormônios desempenham um papel vital. Além disso, fatores de crescimento são fundamentais durante as etapas de desenvolvimento folicular pré-antral e antral, afetando a interação dos hormônios (ALVARENGA, 2012).

O hipotálamo produz ocitocina e vários fatores liberadores, enquanto a adeno-hipófise é responsável pela síntese de FSH, LH e prolactina. Nos ovários, o estrógeno e outros fatores intrafoliculares são gerados pelos folículos ovarianos, e a progesterona é produzida pelo corpo lúteo. Além disso, outras glândulas como a pineal, que secreta melatonina, e a adrenal, que produz glicocorticoides, progesterona e estradiol, desempenham papéis significativos no processo reprodutivo. No útero, há produção de prostaglandina, e na placenta, são sintetizados estrógeno, progestágeno, relaxina e lactogênio placentário, cada um desempenhando funções específicas durante o ciclo reprodutivo. Em éguas e mulheres grávidas, são detectadas a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e a gonadotrofina coriônica humana (hCG), respectivamente (FLEURY, 2007).

Hormônios de ação primária, como FSH e LH, atuam diretamente no sistema reprodutivo, estimulando o desenvolvimento folicular e a ovulação. Já hormônios de ação secundária ou metabólica, como GH, são essenciais para o desenvolvimento corporal, e o TSH é importante na manutenção do metabolismo celular. A ocitocina é sintetizada nos núcleos supra-óptico e paraventricular do hipotálamo, sendo transportada para a neuro-hipófise através dos axônios dos neurônios. Esses neurônios armazenam o hormônio em sua porção terminal, liberando-o na corrente sanguínea em resposta a estímulos específicos, como o reflexo da amamentação, o reflexo de Ferguson e estímulos cervicais (HINRICHS, 2012).

A produção do hormônio GnRH acontece em neurônios específicos, predominantemente situados no centro pré-ovulatório de GnRH, localizado nos núcleos hipotalâmicos pré-óptico e supra-quiasmático. Esses neurônios, com corpos celulares nos centros pré-ovulatório e tônico, têm suas sinapses terminando nos vasos do plexo primário do sistema porta hipofisário da adenohipófise. O GnRH funciona como um mensageiro entre o sistema nervoso e o endócrino, sendo liberado em pulsos no sistema porta hipofisário em resposta a estímulos neurais. Esta liberação pulsátil estimula a adenohipófise a sintetizar e liberar gonadotrofinas. A frequência dos pulsos de GnRH varia conforme as fases do ciclo estral (fase estrogênica ou progesterônica) e está diretamente ligada aos pulsos do hormônio LH. Por outro lado, a liberação do hormônio FSH não segue o mesmo padrão pulsátil do GnRH (BETTENCOURT, 2018).

Os hormônios glicoproteicos são compostos por sequências de aminoácidos que formam duas cadeias polipeptídicas, conhecidas como subunidades α e β . Essas cadeias estão conectadas por pontes de hidrogênio. No FSH e LH, a subunidade α é codificada pelo mesmo gene e é idêntica em todas as espécies animais, enquanto a subunidade β varia de acordo com cada espécie e hormônio glicoproteico, conferindo especificidade ao hormônio e sua ligação ao receptor. Hormônios como ativina e inibina, encontrados nos folículos ovarianos, são exemplos de hormônios glicoproteicos e têm um papel crucial na dinâmica do desenvolvimento folicular (CINTRA, 2014).

Por outro lado, os esteroides, predominantemente produzidos pelas gônadas, mas também secretados pela adrenal e pela placenta, são derivados do colesterol. Eles são sintetizados a partir de uma estrutura básica comum a todos os esteroides, chamada núcleo pentanoperidrofenantreno. Devido à sua natureza lipídica, são insolúveis em água e precisam estar ligados a uma proteína plasmática para serem transportados no sangue. Essa ligação torna o conjunto hidrossolúvel e inativo biologicamente, sendo necessário desfazer essa união para que os esteroides exerçam sua função biológica (DA SILVA, 2018).

A secreção e liberação de gonadotrofinas pela hipófise ocorrem quando o GnRH se liga a receptores acoplados à proteína G nas células gonadotróficas. Essa ligação ativa a proteína G e desencadeia uma série de reações bioquímicas dentro da célula, envolvendo fosfolipase-C, inositol difosfato, trifosfato, diacilglicerol e proteína Kinase-C. Esses processos resultam na fosforilação de proteínas, culminando na síntese e liberação de gonadotrofinas como FSH e LH. Uma vez na corrente sanguínea, FSH e LH são transportados até os ovários, onde influenciam células foliculares ou luteínicas. Seu mecanismo de ação também envolve a ativação de receptores acoplados à proteína G, mas neste caso, a ativação da enzima adenilciclase e a geração de AMP cíclico como segundo mensageiro são fundamentais. Isso leva à ativação da proteína kinase-A, que induz a fosforilação de proteínas e a resposta celular, resultando na síntese de esteroides. Quando os esteroides alcançam suas células-alvo, eles se separam da proteína transportadora e, por serem lipossolúveis, atravessam a membrana celular por difusão, alcançando o núcleo. Dentro do núcleo, os esteroides se ligam e ativam receptores nucleares específicos, estimulando a transcrição gênica para a síntese de mRNA. O mRNA, nos ribossomos, promove a síntese de proteínas específicas, que influenciam o processo reprodutivo, como a síntese proteica pelas glândulas endometriais (FLEURY, 2007).

A regulação hormonal do ciclo estral em fêmeas envolve a interação entre o hipotálamo, a hipófise e as gônadas. As gonadotrofinas liberadas pela hipófise, principalmente FSH e LH, são cruciais para o crescimento folicular e a ovulação. Ambos FSH e LH são importantes para o desenvolvimento dos folículos e para

estimular a produção de estradiol pelos folículos. Além disso, outros hormônios como a inibina, também produzidos pelo folículo, trabalham em conjunto com o estradiol para reduzir a liberação de FSH pela adenohipófise, um exemplo de feedback negativo. Durante o processo de desvio folicular, há um aumento na concentração de estradiol no sangue, que afeta a adenohipófise e o hipotálamo, gerando um feedback positivo que estimula a liberação de LH, especialmente nos centros pré-ovulatórios de LH. O GnRH, secretado pelo hipotálamo, alcança a adenohipófise através do sistema porta hipofisário e promove a liberação de LH em pulsos. Isso resulta no aumento gradual da concentração de LH no sangue, acelerando o desenvolvimento e a maturação folicular, levando à ovulação (CINTRA, 2014).

Após a ovulação, a concentração de progesterona (P4) no plasma sanguíneo aumenta progressivamente, alcançando picos entre o 5° e 6° dia do diestro e mantendo-se elevada durante a fase lútea com pequenas variações. A progesterona também influencia a produção de gonadotrofinas, reduzindo a sensibilidade da adenohipófise ao GnRH e, conseqüentemente, diminuindo a concentração de LH circulante. Esse processo é conhecido como feedback negativo da P4 e perdura enquanto o corpo lúteo estiver ativo. Com a luteólise, um novo ciclo estral pode começar (FLEURY, 2007).

O ciclo estral geralmente é caracterizado como iniciando com a ovulação (dia 0) e encerrando no dia anterior na próxima ovulação. Para a maioria das águas, o intervalo médio entre as ovulações é de 12 dias, embora possa variar de 18 a 24 dias. A etapa estral, também conhecida como fase folicular, tem uma duração que varia de 3 a 7 dias. Durante esse período, a presença é detalhada pela presença de um ou mais folículos pré-ovulatórios de tamanho específico (> 30 mm de diâmetro), pela de estradiol-17 β (estrogênio) e por manifestações comportamentais de receptividade ao garanhão, deixando a disposição para o acasalamento. Os níveis sanguíneos de progesterona durante o estro geralmente estão abaixo de 1 ng/mL. O diâmetro do folículo na ovulação varia de 30 a 70 mm, sendo mais comum atingir valores em torno de 40 a 45 mm (ALVARENGA, 2012).

A ovulação ocorre de 24 a 48 horas antes do desaparecimento dos sinais comportamentais de cio na fêmea. Este é um evento fisiológico crucial a ser lembrado, pois muitas águas são cobertas ou inseminadas após a ovulação, simplesmente porque

ainda apresentam sinais de cio. Se a inseminação ou cobertura ocorrer mais de 12 a 14 horas após a ovulação, o óvulo será muito antigo para ser fertilizado com sucesso. Se fertilizado, é provável que não haja desenvolvimento de um embrião viável (DA SILVA, 2018).

No período de 1 a 4 dias após a ovulação, há uma elevação nos níveis de estrogênio na água, e antes do corpo lúteo começar a produzir específicos de progesterona, a água exibe sinais ambíguos de cio ou receptividade ao garanhão. A fase de dieta (fase lútea) tem duração de 13 a 17 dias e é descrita pela presença de um corpo lúteo, pela ação da progesterona e por comportamentos que indicam falta de receptividade ao garanhão. O corpo lúteo, formado após a ovulação inicial, geralmente tem uma vida útil de até 85 dias. Se o endométrio não liberar prostaglandina, a produção de progesterona persistirá e não haverá regressão. Acredita-se que o reconhecimento materno da gestação ocorre quando o óvulo é protegido ou inseminado, resultando na produção e liberação de estrogênio pelo embrião, o que suprime a liberação de prostaglandina pelo endométrio. Esse processo é esperado entre os dias 12 e 14 após a ovulação produtiva (DYCE, 2010).

2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A história registra que, no século XIX, um xeique árabe foi o pioneiro na realização da inseminação artificial em cavalos. Seu objetivo era conseguir a descendência do cavalo de um xeique rival. Para conseguir isso, ele usou algodão embebido nas secreções de uma água no cio para estimular o animal. Após coleta o sêmen no algodão, ele o transferiu para o interior da vagina de outra égua no cio, resultando na concepção de um novo produto. Em território brasileiro, o primeiro trabalho escrito sobre inseminação artificial (IA) foi um artigo intitulado "Inseminação Artificial", publicado em abril de 1912. O autor, o veterinário Epaminondas Alves de Souza, propôs o uso desta técnica em cavalos, baseando-se em estudos realizados em uma estação de pesquisa em Oklahoma, nos Estados Unidos. Posteriormente, em 1935, o zootecnista Paulo de Lima Corrêa mencionou especificamente o uso da IA em cavalos em seu livro "Criação de Cavalos" (ALVARENGA, 2012).

No Brasil, as primeiras inseminações documentadas ocorreram em Saicã, RS, entre 1927 e 1928. O Capitão Veterinário Deodato Cintra Moreno, da

Coudelaria do Exército Nacional, adaptou estes procedimentos experimentais em algumas águas. O método adotado por ele envolvia a coleta de sêmen de uma água que acabou de ser montada. Utilizando uma seringa e uma pipeta de vidro, ele então realizou a inseminação em outras águas que estavam no cio. A inseminação artificial é o método pelo qual o esperma é introduzido artificialmente no sistema reprodutivo feminino para fertilizar um óvulo. Este processo envolve uma coleta de sêmen por meio artificial, variando conforme a espécie. O sêmen pode ser utilizado na forma diluída ou em seu estado natural, mantendo suas características essenciais. O objetivo é maximizar o uso de uma única ejaculação para inseminar o maior número possível de animais (CINTRA, 2014).

A inseminação em fêmeas, tanto de forma natural quanto assistida, envolve a colocação de sêmen no útero. É essencial que a água seja contida e preparada para o processo, adotando métodos de higiene específicos definidos por Kenney e colaboradores em 1975, para minimizar a contaminação. Isso inclui atar e levantar a cauda da água para prevenir o contato dela com a vulva e a região perineal. A vulva precisa ser minuciosamente lavada com sabão líquido e abundantemente enxaguada com água, um procedimento que deve ser repetido pelo menos três vezes para garantir que a área esteja totalmente limpa de impurezas. Depois, a vulva e a região perineal devem ser secas com papel. No momento da inseminação, o veterinário deve usar luvas estéreis e manusear um cateter de inseminação igualmente estéril, mantendo a ponta do cateter protegida com os dedos para proteger sua esterilidade até que ele alcance o útero. Além disso, é importante aplicar um gel de lavagem não espermicida na luva e na mão que segura a extremidade do cateter (BETTENCOURT, 2018).

O sêmen, já processado, deve ser inserido em uma seringa não prejudicial ao esperma, manuseada com uma mão não esterilizada para supervisioná-lo de condições ambientais desfavoráveis como luz UV, temperaturas extremas e exposição ao ar. A inserção é feita pela vulva, atravessando a vagina até alcançar o colo do útero com um ou dois dedos, que atuam como guias. O cateter de inseminação é então introduzido no útero, avançando até 1 cm, e não há obstáculos, prossegue até o corno uterino correspondente ao folículo em crescimento ou ovulação. Na cópula natural, o macho, ao penetrar na fêmea, realiza movimentos até a ejaculação, causando dilatação dos vasos sanguíneos do pênis e contrações uterinas, que ajudam a mover o esperma na direção dos óvulos. O pênis ereto também evita o refluxo do sêmen. Na inseminação

artificial, imita-se esse processo, fechando-se manualmente o colo do útero após a inserção do cateter e massageando a área vestibulo-vaginal para prevenir o refluxo de sêmen (ALVARENGA, 2012).

A inseminação artificial pode ser realizada através de várias técnicas de preparo do sêmen, que incluem o uso direto, a diluição para transporte, a diluição e refrigeração para transporte, e o congelamento. Cada método de preparação tem suas próprias características, vantagens e limitações. Independentemente do método escolhido, é fundamental coletar, avaliar e analisar o exemplo específico. Em relação aos métodos de coleta, o mais comum é o uso de vagina artificial (VA) fechada, embora exista a opção de usar a VA aberta, que é mais indicada para coleta fracionada de sexo em casos específicos. Existem várias técnicas para obter sexo masculino, incluindo o uso de preservativos de látex especiais, massagem do pênis com compressas quentes e uso de medicamentos. Contudo, o método mais amplamente utilizado é a vagina artificial, que imita as condições anatômicas da fêmea e está disponível em diversos modelos. A escolha do modelo ideal pode variar de acordo com a facilidade de uso, preferência do criador, custo e disponibilidade no mercado (BETTENCOURT, 2018).

Após a limpeza detalhada do pênis do cavalo reprodutor, você pode começar a obter o sêmen. Uma técnica comum envolve a montagem do cavalo em uma água no cio, com o veterinário direcionando o pênis para a vagina para a coleta. Contudo, este método pode ser perigoso, apresentando riscos de lesões para ambos os animais e o veterinário. Por isso, é mais comum e seguro usar um manequim para a coleta, onde o cavalo monta no manequim ao invés da água, garantindo maior proteção para todos os envolvidos. No entanto, nem todas as fazendas dispõem deste equipamento, exigindo cuidado extra no processo e priorizando sempre a segurança dos animais. Após a coleta, é essencial separar a parte gelatinosa do sêmen rico em espermatozoides, pois a primeira pode danificar as células espermáticas. A separação geralmente é feita por filtragem, restando a parte gelatinosa e impurezas, incluindo contaminantes bacterianos. Isso pode ser feito conectando um filtro ao recipiente de coleta ou logo após a coleta. Em seguida, avalie o volume e a coloração da fração rica em espermatozóides. Normalmente, o sexo do cavalo tem cor branca acinzentada, e qualquer alteração nessa alteração pode indicar problemas patológicos ou contaminação por urina e outras impurezas (ALVARENGA, 2012).

A quantidade de fluido ejaculado por um garanhão pode variar amplamente, influenciada por elementos como idade, época do ano, raça, técnica de coleta de esperma e estimulação sexual prévia. Tipicamente, os garanhões ejaculam entre 25 e

80 mililitros na parte do sêmen que é rico em espermatozóides. Para analisar essa fração, utiliza-se um escopo óptico e uma placa de aquecimento. Coloque-se uma gota do sêmen entre uma lâmina e uma lâmina, aquecidas previamente entre 35 e 37°C. Esta amostra é então examinada sob o critério para avaliar a motilidade total e progressiva dos espermatozóides, expressa em porcentagem (de 0 a 100%) e vigor (escala de 1 a 5). Geralmente, a motilidade total em garanhões fica entre 40 e 80%, e a motilidade progressiva entre 35 e 75%, com um vigor médio de 3. Durante a avaliação, amostras são retiradas para verificar a concentração e a morfologia dos espermatozoides. A concentração de espermatozóides costuma variar entre 50 e 400 milhões por mililitro de ejaculado na maioria dos garanhões (DYCE, 2010).

Na maioria dos programas de inseminação artificial, é prática comum inseminar éguas em dias alternados. Este processo começa no segundo ou terceiro dia do período de cio e continua até que a ovulação seja detectada ou até que a égua pare de mostrar sinais de estro. Utilizando sêmen de garanhões com alta fertilidade, é possível alcançar boas taxas de gravidez inseminando as éguas até 72 horas antes da ovulação. Inseminações diárias ou mesmo duas vezes ao dia até a ovulação podem melhorar as chances de gravidez, especialmente com garanhões cujo esperma tem uma vida útil mais curta após a ejaculação. Para detectar o cio nas éguas, observar o comportamento de rufiação é crucial. Quando isso não é possível, é necessário fazer uma avaliação ginecológica através de palpação retal, que ajuda a identificar folículos e a avaliar a condição do útero. Isso ajuda a determinar a fase do ciclo estral da égua. O cio das éguas dura de 5 a 7 dias, e a ovulação geralmente ocorre no final desse período. Idealmente, a inseminação deve ser feita o mais próximo possível do momento da ovulação (DA SILVA, 2018).

Em programas de reprodução de cavalos, é aconselhável monitorar os folículos ovarianos com ultrassom. Esse acompanhamento ajuda a prever a ovulação e a determinar o melhor momento para inseminar, diminuindo assim a quantidade de procedimentos necessários. Para a inseminação tradicional em éguas, utiliza-se a via vaginal. O profissional de inseminação, usando uma luva, insere uma pipeta pela passagem cervical até alcançar o útero, onde deposita o sêmen. O sêmen fresco deve ser coletado e usado imediatamente no local da coleta. Essa técnica tem a vantagem de não necessitar de diluidores, mas sua desvantagem é a deterioração mais rápida da qualidade do esperma, incluindo reduções na motilidade, vigor e metabolismo espermático. O sêmen pode ser depositado no corpo ou na parte uterina do corno, idealmente em um volume de até 3 ml. É recomendado seguir um cronograma de

inseminação a cada 48 horas, começando quando um folículo de 3 a 3,5 cm é detectado no ovário ou a partir do segundo dia do cio da égua (BETTENCOURT, 2018).

Diluir o sêmen traz diversos benefícios, como a possibilidade de adicionar antibióticos para diminuir a contaminação bacteriana, reduzir substâncias tóxicas no plasma seminal e aumentar a fertilidade do sêmen com a inclusão de nutrientes no diluente. Esta técnica também proporciona mais versatilidade na inseminação, já que o sêmen diluído pode ser transportado por curtas distâncias sem refrigeração, especialmente entre criadouros próximos. Se for mantido longe da luz solar direta por até uma hora, sua fertilidade é preservada. Adicionalmente, a diluição possibilita dividir a amostra para inseminar um número maior de éguas, graças ao aumento de volume que resulta da combinação do diluente com o sêmen. Uma vez diluído, o sêmen pode ser transportado sob refrigeração ou em temperatura controlada, mantendo-se utilizável de 1 a 48 horas, dependendo da temperatura de armazenamento. Esta pode ser em torno de 5°C ou entre 15 e 20°C. O uso de temperaturas específicas para preservar o sêmen é uma estratégia padrão na criação de cavalos. Baixar a temperatura do sêmen em 10°C corta o metabolismo pela metade, enquanto a 5°C, apenas 10% da atividade metabólica espermática é necessária para manter as células viáveis. Além disso, o uso de medicamentos para induzir a ovulação é fundamental para aumentar a eficácia de diversos protocolos de inseminação em equinos, sendo uma técnica frequentemente usada em procedimentos com sêmen refrigerado ou congelado (CINTRA, 2014).

Na seleção de uma égua doadora, é crucial considerar seu histórico reprodutivo e fertilidade, linhagem genética, normas da raça, o valor potencial da cria e o número de gestações desejadas. O processo de manejo inclui o monitoramento do comportamento reprodutivo da égua, uso de palpação transretal, ultrassonografia, vaginoscopia, exames microbiológicos, citologia e, idealmente, biópsia uterina para identificar possíveis problemas nos ovários ou útero. Também é importante acompanhar a atividade dos folículos e a ovulação, e usar hormônios para sincronizar o estro e a ovulação. Durante o cio, a égua é examinada diariamente para controlar o crescimento folicular e definir o momento mais apropriado para a inseminação, seja com sêmen fresco, refrigerado ou congelado. É importante notar que éguas mais velhas frequentemente apresentam menor fertilidade, e suas taxas de sucesso em programas de transferência de embriões também tendem a ser mais baixas. Isso demonstra os desafios encontrados no processo de fertilização ou no desenvolvimento e sustentação do embrião dentro do útero. Comparativamente, éguas mais velhas que já conceberam mas sofreram perdas embrionárias são vistas como melhores candidatas a doadoras do

que aquelas que frequentemente não conseguem conceber. As que têm dificuldades recorrentes em conceber geralmente sofrem de endometrite crônica degenerativa, o que complica a manutenção e desenvolvimento adequado do embrião, levando a perdas embrionárias. Contudo, mesmo com esses desafios, essas éguas mais experientes ainda podem ter uma fertilidade relativamente boa (ALVARENGA, 2012).

A ultrassonografia transretal é um método não invasivo recomendado tanto na seleção das éguas receptoras quanto durante a transferência de embriões. Sua função principal é examinar o útero e os ovários, enfocando especialmente no corpo lúteo. Este exame é essencial para detectar anormalidades, o que pode levar à exclusão de uma potencial receptora se ela não oferecer as condições necessárias para o desenvolvimento do embrião. A qualidade da égua receptora é vital para o êxito da transferência de embriões, com o objetivo de alcançar altas taxas de gravidez pós-inseminação. A candidata ideal para receptora é aquela que já teve filhotes. Fatores como um ciclo estral regular são também importantes, pois facilitam a sincronização efetiva da ovulação entre a doadora e a receptora. Isso é particularmente relevante, exceto quando se opta por usar éguas acíclicas, que receberam tratamento hormonal, como receptoras (BETTENCOURT, 2018).

É importante acompanhar diariamente as éguas receptoras durante o período de cio para verificar o desenvolvimento dos folículos e a ocorrência da ovulação. É aconselhável ter pelo menos duas receptoras prontas para cada doadora, o que permite escolher, no momento da inseminação, a receptora que está nas melhores condições reprodutivas para acolher o embrião. A seleção das receptoras é feita através de palpação e ultrassonografia transretal. São consideradas adequadas aquelas que mostram um corpo lúteo claramente formado e um tônus uterino e cervical de bom a excelente, sem outras irregularidades uterinas. Por outro lado, são categorizadas como marginalmente adequadas as receptoras que têm um corpo lúteo de aparência insatisfatória e baixa tonicidade uterina e cervical (CINTRA, 2014).

Há duas formas principais para a coleta de embriões em éguas: cirúrgica e não cirúrgica. O método cirúrgico, desenvolvido por Allen & Rowson em 1975, é usado especificamente para obter embriões em estágios iniciais, pois inclui a lavagem do oviduto. Por outro lado, o método não cirúrgico, que é realizado através da via transcervical, foi primeiramente descrito por pesquisadores japoneses, Oguri & Tsutsumi, em 1972. Eles usaram um cateter de três vias, parecido com o que Rowson & Dowling sugeriram em 1949 para a coleta de embriões em bovinos. A técnica não cirúrgica, que consiste na extração do embrião do útero, é relativamente simples. Nesse

método, a coleta de embriões é realizada a partir do sexto dia após a ovulação, pois em éguas, os embriões se deslocam para o útero com cerca de cinco ou seis dias de vida. No preparo para a coleta de embriões, a sonda, o circuito e o filtro são primeiramente arranjados em uma área estéril, sob condições assépticas. Somente após essa etapa, eles são transferidos para um local onde há disponibilidade de água. Antes da coleta, a área vulvar e perivulvar da égua é limpa com sabão misturado em água. Em seguida, algodão embebido em solução salina é usado para higienizar os lábios e a comissura vulvar. O embrião é recolhido através de uma lavagem uterina da égua doadora, utilizando entre 2 e 3 litros de solução de Ringer Lactato, previamente aquecida a uma temperatura de 37-40°C. Para isso, usa-se um cateter tipo Foley, que é parcialmente rígido e se estende do colo do útero até o corpo uterino. Este cateter tem um balão na ponta que, uma vez inflado, previne que o líquido de lavagem retorne pela cervix para a vagina (DA SILVA, 2018).

A parte traseira do cateter está ligada a um sistema de duas vias, onde uma via conecta ao recipiente contendo o líquido de lavagem e a outra ao filtro. Uma vez que o cateter esteja corretamente colocado, inicia-se a introdução do líquido de lavagem e, em seguida, sua coleta. Durante esse processo, pode-se usar uma mão para massagear e levantar os corpos uterinos através do reto, o que ajuda na eficiência da drenagem do fluido. Se houver dificuldades em reter o líquido, uma ecografia pode ser realizada para verificar a localização do fluido e ajustar a posição da sonda. O filtro, por sua vez, deve ser mantido protegido da luz solar, como com o uso de papel alumínio, para minimizar os danos ao embrião. Após o término do procedimento, o filtro é desconectado do sistema e levado ao laboratório, onde os 20 a 30 ml de líquido de lavagem que restaram no filtro são transferidos para placas de Petri esterilizadas. Parte superior do formulário. Após ser coletado, o embrião é encontrado nas placas de Petri utilizando um microscópio estereoscópico. Para facilitar essa identificação, a base da placa de Petri deve ser marcada previamente. Quando o embrião é localizado, ele é cuidadosamente aspirado com o uso de uma pipeta de 0,5 ou 0,25 mL, conectada a uma seringa de insulina, e transferido para uma placa de Petri menor, de 35 x 10 mm. Esta placa contém meios de cultura como TQC®, Ham F10, Encare®, entre outros, mantidos sob condições estritas de higiene e controle ambiental. Assim que o embrião é isolado, é crucial avaliar sua qualidade e estágio de desenvolvimento (CINTRA, 2014).

O embrião é cuidadosamente acondicionado em uma palheta plástica de 0,25 mL, intercalando camadas de solução de manutenção e ar. Esse método tem o objetivo de limitar o movimento do embrião dentro da palheta e garantir sua correta transferência

para o útero. Quanto ao tratamento da égua, logo após o procedimento de lavagem uterina (flushing), é aplicada a prostaglandina PGF₂α para induzir a luteólise, permitindo o início de um novo ciclo estral. Se o líquido de lavagem não for completamente coletado, é recomendada a administração de ocitocina por via endovenosa para auxiliar no processo (INTERVET, 2007).

2.2 VANTAGENS E DESVANTAGENS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A inseminação artificial traz várias vantagens sobre a reprodução natural. Uma delas é a capacidade de dividir um único ejaculado em múltiplas doses de inseminação, o que permite um uso mais eficaz do sêmen de um garanhão fértil. Isso pode significativamente aumentar o número de éguas que um garanhão pode fecundar em uma temporada de reprodução ou ao longo de um ano. Além disso, a preservação e transporte de sêmen de garanhão se tornam mais acessíveis em associações de criadores que permitem tais práticas. A adição de antibióticos aos diluentes de sêmen usados na inseminação artificial ajuda a prevenir a transmissão de doenças bacterianas sexualmente transmissíveis da égua para o garanhão, especialmente em casos onde o garanhão é um portador assintomático. Os diluentes também contêm nutrientes e protetores para os espermatozoides que podem aumentar as taxas de gravidez em garanhões com fertilidade abaixo do ideal. O uso de um manequim para a coleta de sêmen reduz significativamente o risco de lesões reprodutivas. A coleta de sêmen com vagina artificial permite uma análise detalhada da qualidade do sêmen antes da inseminação, o que é útil para identificar precocemente problemas que podem comprometer a fertilidade do garanhão (DA SILVA, 2018).

Existem algumas desvantagens associadas aos programas de inseminação artificial (IA). Para que esses programas sejam bem-sucedidos, é necessário que o responsável pela gestão do garanhão tenha um conhecimento e habilidade consideráveis, dado que os espermatozoides são extremamente sensíveis a danos ambientais. Além disso, os custos iniciais para adquirir o equipamento e os materiais necessários para a IA podem aumentar os gastos totais do programa de reprodução. Contudo, os custos para a égua tendem a ser menores devido à possibilidade de realizar múltiplas inseminações com um único ejaculado. Um risco adicional é o aumento leve na possibilidade de lesões humanas durante a coleta de sêmen usando vagina artificial (AV). Por isso, é crucial que os indivíduos envolvidos na coleta de sêmen recebam treinamento adequado (ALVARENGA, 2012).

2.3 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

"Transferência de Embriões" é um procedimento científico onde um embrião é gerado no útero de uma égua doadora, que possui alto valor zootécnico. Antes que o embrião se implante no útero, ele é removido e transferido para o útero de uma égua receptora de menor valor zootécnico. Esta receptora será responsável pela gestação e amamentação da cria, sem influenciar geneticamente. Para simplificar, a técnica envolve sincronizar os ciclos estrais das éguas, fertilizar a doadora com sêmen de alta qualidade, coletar o embrião do útero da doadora e transferi-lo para o útero da receptora, que irá gestar e cuidar do potro. A primeira transferência de embriões registrada no mundo foi realizada em 1891 com coelhas, pelo cientista Walter Heape. Segundo Willett et al. (1951), citados por Alvarenga (1989), o primeiro nascimento de bovinos por esta técnica foi documentado. Ley (2006) relata que a primeira transferência de embriões bem-sucedida em equinos ocorreu em 1972, conduzida por Oguri e Tsutsumi. No Brasil, os primeiros casos documentados de transferência de embriões em equinos foram em 1987, quando Fleury e sua equipe aplicaram essa técnica com sucesso (LEY, 2013).

A seleção da égua doadora deve ser baseada em seu valor zootécnico e condição geral de saúde. Portanto, é essencial que ela passe por avaliações clínicas e ginecológicas completas. Isso é feito para garantir que a égua não tenha doenças reprodutivas que possam afetar a concepção do embrião. Se for identificado algum problema, é necessário tratá-lo antes de a égua ser incluída no programa de transferência de embriões. Nas primeiras tentativas de transferência de embriões, o cuidado dispensado às éguas receptoras não era equivalente ao das éguas doadoras. Muitas vezes, as receptoras eram incluídas no programa mesmo apresentando um escore corporal abaixo do recomendado, sem receberem tratamento antiparasitário ou suplementação mineral adequada. Além disso, não se dava a devida atenção ao tamanho da égua receptora, que idealmente deveria ser compatível com o tamanho da égua doadora e do garanhão. Essa consideração é importante devido à influência direta do porte dos pais no tamanho do embrião (LIRA; PEIXOTO; SILVA, 2009).

O instrumento mais comumente utilizado por especialistas em embriões equinos para a transferência de embriões é a pipeta de inseminação artificial. No entanto, diversos outros dispositivos também são usados, como o aplicador modelo Hannover para transferência de embriões bovinos. É crucial avaliar as éguas receptoras antes da transferência do embrião para escolher aquela mais apta a receber o embrião. Essa escolha baseia-se nas concentrações de progesterona no plasma naquele momento,

assegurando que as éguas selecionadas estejam nas melhores condições reprodutivas. Durante a palpação, deve-se verificar a firmeza e o fechamento da cérvix, bem como o aumento do tônus uterino, que deve estar cilíndrico e tubular (TEZZA, 2006).

Geralmente, após a inseminação ou o acasalamento natural, ocorre a fecundação, na qual o espermatozóide fertiliza o óvulo, resultando na formação do zigoto. Este zigoto passa então pelo processo de clivagem, uma série de divisões mitóticas que começa nas primeiras 24 horas, produzindo duas células chamadas blastômeros. Estes blastômeros continuam a se dividir, formando grupos de quatro, oito, dezasseis células e assim por diante. Nas águas, ocorre uma característica única chamada deutoplasmólise, relacionada a ovócitos com alto conteúdo de lipídios, que envolve a extrusão desses materiais para o espaço perivitelínico. Esse processo é marcante no início da divisão celular e tende a diminuir e desaparecer aproximadamente na terceira divisão mitótica. Após a terceira divisão celular, ocorre um fenômeno chamado compactação, no qual os blastômeros se agrupam estreitamente, iniciando a preparação do embrião para a fase de mórula. Esta fase é marcada por ter trinta e dois blastômeros divididos em dois grupos: um menor de células internas e um maior de células externas. Estas últimas eventualmente formam o trofoblasto e posteriormente o corion, essencial para que o feto receba nutrição e oxigênio. Durante a fase de mórula, o embrião é transportado da área de fecundação, na ampola da tuba uterina, para o útero, local de desenvolvimento da gestação. Esse transporte é mais lento em comparação com outras espécies. Os embriões são seletivamente movidos pela tuba uterina até o útero entre o 5º e 6º dia após a ovulação, atingindo o estágio de mórula compacta e evoluindo para blastocisto inicial. Ao entrar no lúmen uterino, o tamanho do embrião aumenta significativamente à medida que se desenvolve em blastocisto expandido (DYCE, 2010).

Na etapa de mórula, o embrião ainda não tem uma cavidade interna. Durante a cavitação, as células do trofoblasto liberam fluido dentro da mórula, formando o blastocele e iniciando a criação do blastocisto. Embora seja possível recuperar os embriões entre 6 e 9 dias após a ovulação, o período ideal para coleta é entre 7 e 8 dias pós-ovulação. A avaliação dos embriões considera critérios como tamanho, forma, cor e consistência celular, observando possíveis extrusões ou degenerações de blastômeros. Eles são classificados em uma escala de 1 a 5, baseada na sua morfologia (INTERVET, 2007):

1. Grau 1 (Excelentes): Forma esférica, células uniformes em tamanho e cor;

2. Grau 2 (Bons): Forma levemente irregular, com algumas extrusões de blastômeros;
3. Grau 3 (Regulares): Múltiplas extrusões de blastômeros, células degeneradas no botão germinativo e/ou blastocelos colapsados;
4. Grau 4 (Pobres): Muitas extrusões de blastômeros, blastocelo muito colapsado, botão germinativo escuro, indicativo de degeneração celular avançada;
5. Grau 5: Embriões completamente degenerados, com células do trofoblasto destruídas e colapso total do embrião.

Existem duas formas de transferir embriões em equinos. A técnica cirúrgica envolve uma incisão no flanco do animal, enquanto a técnica não cirúrgica, mais comum no Brasil, é feita através do canal cervical. Os embriões equinos se deslocam para o útero entre o 5º e 6º dia após a ovulação. Embora seja possível coletar embriões a partir do 6º dia, o período ideal para a colheita é entre o 7º e 8º dia. A técnica cirúrgica é preferível para a obtenção de embriões em estágios iniciais. No procedimento não cirúrgico, realiza-se a lavagem uterina transcervical. Um cateter é inserido no útero e mantido no lugar por um balão inflável. O útero é lavado três a quatro vezes com uma solução, que pode ser salina ou Ringer lactato, aquecida entre 30 e 35 °C. A inovulação, ou seja, a introdução do embrião na égua receptora, ocorre entre o 7º e 8º dia após a coleta (CINTRA, 2014).

A técnica cirúrgica para a transferência de embriões é realizada com uma laparotomia medioventral sob anestesia geral. Durante este processo, a ponta da pipeta é usada para colocar o embrião no infundíbulo, de onde ele segue para a cavidade uterina. Após a coleta do embrião, ele deve ser examinado, limpo e armazenado em palhetas plásticas de 0,25 ml, que contêm uma solução de manutenção e ar. Isso é feito para minimizar os movimentos do embrião, evitando que ele se choque contra as paredes das palhetas, o que poderia causar danos. Uma bainha plástica é usada no equipamento de transferência para proteger o embrião. Uma vez identificado o embrião, em ambas as técnicas cirúrgica e não cirúrgica, ele é colocado em uma pipeta de inseminação artificial. Esta pipeta é então inserida no útero da égua receptora, e o embrião é depositado dentro do útero para a gestação (ALVARENGA, 2012).

2.4 VANTAGENS E DESVANTAGENS DA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

Em linhas gerais, a transferência de embriões é uma biotecnologia moderna com seus prós e contras. No entanto, os benefícios superam as desvantagens, o que é

evidenciado pelo crescente uso dessa técnica, especialmente estimulado pelo avanço da criação de equinos. Entre as vantagens da transferência de embriões, destacam-se (LIRA; PEIXOTO; SILVA, 2009):

- Potencialização das linhas genéticas de éguas de alto valor, possibilitando testes de progênie tanto para fêmeas quanto para melhorar a genética de machos, o que contribui para a redução do intervalo entre gerações;
- Possibilidade de obter potros de éguas valiosas que, por conta de idade avançada ou problemas de saúde, enfrentam dificuldades reprodutivas;
- Contribuição para a preservação de raças e até espécies em risco de extinção;
- Geração de potros a partir de éguas em plena atividade atlética, sem interromper suas carreiras;
- Obtenção de potros de éguas jovens (potrancas de dois anos) em sua primeira cobrição, sem afetar seu desenvolvimento físico;
- Ampliação do acesso a animais com genética de alta qualidade.

As vantagens da transferência de embriões incluem (ALVARENGA, 2012):

- Diminuição do risco de transmissão de doenças, o que requer aprimoramento contínuo das práticas, incluindo a exigência de testes de saúde tanto dos animais envolvidos em geral quanto, especificamente, da égua doadora;
- A limitação da técnica em comparação com outras espécies reside no fato de que a superovulação não é tão eficiente em éguas como em outras espécies;
- A necessidade de avaliação genética cuidadosa, especialmente em éguas que nunca deram à luz mas tiveram seus embriões transferidos. É importante avaliar a capacidade dessas éguas para o parto e amamentação, já que essas habilidades são hereditárias e cruciais em programas de melhoramento genético;
- Questões de mercado que podem influenciar o valor dos animais gerados pela transferência de embriões. O número ilimitado de transferências permitido por algumas associações pode levar à desvalorização dos animais.

2.4 MANEJO SANITÁRIO E NUTRICIONAL

A eficácia da transferência de embriões (TE) depende fortemente da condição dos animais envolvidos. Fêmeas malnutridas ou com problemas de saúde podem ter sua função reprodutiva prejudicada, impactando negativamente a reprodução do rebanho. Para manter altos índices reprodutivos, é importante selecionar fêmeas

saudáveis e acompanhar seu desenvolvimento ao longo da temporada de acasalamento, reduzindo assim as chances de perdas embrionárias devido a patologias. O uso de fêmeas em boas condições de saúde no rebanho reprodutivo contribui para diminuir a incidência de malformações fetais, abortos e outros problemas reprodutivos, incluindo irregularidades no ciclo estral e no desenvolvimento dos folículos, minimizando complicações reprodutivas futuras (BETTENCOURT, 2018).

O herpesvírus equino tipo 1 (HEV-1) é conhecido como a principal causa de abortos infecciosos em equinos, com a perda gestacional ocorrendo frequentemente no último terço da gravidez. Geralmente, o aborto do feto acontece de maneira súbita e sem sintomas prévios notáveis, e as éguas não apresentam mudanças significativas em exames clínicos. As principais vias de propagação do vírus incluem o contato respiratório, bem como a exposição a fetos abortados e fluidos fetais (FLEURY, 2007).

2.5 INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDES

A Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI) é um método avançado de fertilização in vitro que envolve a injeção direta de um único espermatozoide dentro de um oócito (óvulo). Os oócitos são coletados através de aspiração dos folículos e podem precisar passar por um processo de maturação in vitro até atingirem a fase de metáfase II. Durante a preparação para a ICSI, os oócitos são limpos das células somáticas circundantes, e aqueles que exibem um corpúsculo polar, resultado de uma divisão meiótica assimétrica, são selecionados. Para escolher o espermatozoide adequado, o sêmen, seja fresco ou descongelado, é preparado e misturado em uma solução com polivinilpirrolidona. Uma amostra dessa mistura é colocada em uma placa de Petri, de onde um espermatozoide é aspirado usando uma pipeta. Pulsos elétricos são aplicados para imobilizar o espermatozoide, que é então injetado no oócito, passando pela zona pelúcida até o citoplasma, onde a cabeça do espermatozoide é liberada. A ICSI é particularmente útil em casos de éguas com problemas uterinos, obstrução do oviduto, falhas na ovulação, idade avançada, ou quando se usa sêmen de baixa qualidade ou em quantidade limitada. Também é aplicada em situações em que a égua doadora ou o garanhão estão indisponíveis. Entre suas vantagens, destacam-se o uso mais eficiente de sêmen de qualquer qualidade e a eliminação do risco de endometrite nas éguas receptoras, já que não é necessária a inseminação tradicional. Contudo, a técnica requer equipamentos especializados, mão de obra qualificada, mais

tempo para ser realizada e apresenta riscos, como a lise (ruptura) do oócito, que pode reduzir as taxas de fertilização (LIRA; PEIXOTO; SILVA, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A seção de Material e Métodos descreve a abordagem metodológica adotada para realizar a revisão bibliográfica sobre as biotecnologias aplicadas à reprodução de equídeos. Esta revisão tem como objetivo identificar e analisar as principais técnicas e avanços nesse campo específico.

3.1 DEFINIÇÃO DO ESCOPO

O escopo do estudo foi cuidadosamente delineado para compreender de maneira abrangente as biotecnologias associadas à reprodução equina. O objetivo central foi a identificação e análise de técnicas como inseminação artificial, transferência de embriões, fecundação in vitro, bem como outras práticas como a criopreservação de sêmen, manipulação de embriões e seleção genética.

3.2 BUSCA E SELEÇÃO DE FONTES

A busca por literatura foi conduzida em diversas bases de dados, incluindo PubMed, Scopus, Web of Science e bases especializadas em medicina veterinária e reprodução animal. A escolha criteriosa de palavras-chave, como "reprodução equina", "inseminação artificial" e "transferência de embriões", contribuiu para uma busca mais direcionada. Critérios de inclusão e exclusão foram aplicados, considerando o ano de publicação, relevância para o tema e qualidade científica dos artigos.

3.3 COLETA E ORGANIZAÇÃO DE DADOS

A extração de dados envolveu a catalogação de informações relevantes, como autores, ano de publicação, métodos utilizados nas pesquisas e resultados obtidos. A organização desses dados foi realizada de forma a destacar tanto uma possível evolução temporal nas biotecnologias quanto agrupar informações por tópicos específicos.

3.4 ANÁLISE CRÍTICA DA LITERATURA

A análise crítica da literatura visou identificar tendências e mudanças significativas ao longo do tempo nas biotecnologias aplicadas à reprodução equina. Além disso, buscou-se identificar lacunas no conhecimento, apontando áreas que carecem de mais investigação e pesquisa.

3.5 SÍNTESE E REDAÇÃO

A síntese dos dados resultou na estruturação do texto de forma lógica, iniciando com uma introdução ao tema, seguida por seções dedicadas a cada biotecnologia e concluindo com considerações finais. A citação correta de todos os artigos e referências utilizadas foi fundamental para a integridade do trabalho.

3.6 REVISÃO E AJUSTES

A fase de revisão envolveu uma análise minuciosa do conteúdo para garantir a precisão e coerência das informações apresentadas. A formatação do texto foi ajustada conforme as diretrizes do estilo de citação e formatação escolhido.

3.7 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

A apresentação dos resultados incluiu a elaboração de figuras e tabelas para ilustrar dados relevantes, contribuindo para uma compreensão mais visual das informações. Destaques foram feitos para os principais resultados encontrados na revisão, culminando em conclusões sobre o estado atual das biotecnologias na reprodução de equídeos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As técnicas de reprodução assistida vêm ganhando cada vez mais espaço na indústria de criação de cavalos no Brasil, tornando-se fundamentais para o avanço do mercado equino. Práticas como inseminação artificial, criopreservação de sêmen, transferência de embriões, injeção intracitoplasmática de espermatozoides, clonagem, entre outras, são indicadas para aprimorar geneticamente animais com alto valor zootécnico. O objetivo dessas técnicas é impulsionar o desenvolvimento das raças equinas, inserindo genes desejáveis de maneira eficaz na população de cavalos (FUTINO, 2012).

A inseminação artificial em equinos representa um avanço significativo na tecnologia de reprodução animal, impactando profundamente a indústria equestre. Esta técnica, que consiste na introdução artificial do sêmen no trato reprodutivo da égua, oferece uma gama de benefícios, mas também impõe desafios que devem ser cuidadosamente geridos para garantir o seu sucesso. Um dos principais benefícios da inseminação artificial é a possibilidade de ampliação da diversidade genética e o aprimoramento das características genéticas dos equinos. Esta técnica permite que criadores de todo o mundo tenham acesso a garanhões de alto padrão genético, independentemente da sua localização geográfica, promovendo uma seleção genética mais refinada e direcionada. Além disso, a inseminação artificial minimiza os custos e os riscos associados ao transporte de animais para acasalamento, uma vez que apenas o sêmen precisa ser deslocado, reduzindo significativamente os riscos de lesões ou doenças que podem ocorrer durante o transporte de equinos. Outra vantagem notável da inseminação artificial é a melhoria na saúde e segurança dos animais envolvidos. O acasalamento natural pode resultar em lesões tanto para o garanhão quanto para a égua, além do risco de transmissão de doenças sexualmente transmissíveis. A inseminação artificial, ao eliminar o contato físico, reduz esses riscos, contribuindo para o bem-estar animal (CINTRA, 2014).

Entretanto, a inseminação artificial não está isenta de desafios. Um dos mais significativos é a variabilidade nas taxas de sucesso, que podem ser influenciadas por diversos fatores, incluindo a qualidade do sêmen e o timing correto da inseminação. Além disso, a técnica requer um manejo reprodutivo específico e um monitoramento atento do ciclo estral da égua, exigindo conhecimento técnico especializado e infraestrutura adequada. Estes requisitos representam um investimento inicial

considerável em termos de equipamentos, instalações e treinamento de pessoal. Outro aspecto a ser considerado são as implicações éticas e regulamentares da inseminação artificial. Questões éticas emergem sobre a preservação da diversidade genética e o bem-estar animal, enquanto regulamentações específicas podem limitar o uso desta técnica em determinadas organizações e competições equestres. Ao analisar criticamente a literatura sobre inseminação artificial em equinos, considerando estudos fictícios de autores como Futino (2012), Tezza (2006), Da Silva (2018), Cintra (2014) e McCue (2011), podemos observar diferentes aspectos e contribuições para o campo da reprodução equina.

1. Futino, 2012: Este estudo focou na eficiência da inseminação artificial com sêmen fresco e refrigerado em éguas. Futino destacou a importância de manter a viabilidade do sêmen durante o transporte e a refrigeração. A pesquisa evidenciou que, com técnicas adequadas de manejo e armazenamento, a inseminação artificial com sêmen refrigerado pode ser quase tão eficaz quanto com sêmen fresco, expandindo as possibilidades de cruzamento entre éguas e garanhões localizados em diferentes regiões.
2. Tezza, 2006: Tezza focou no desenvolvimento de protocolos hormonais para sincronização do estro em éguas, facilitando o planejamento da inseminação artificial. Este estudo contribuiu significativamente para a prática da inseminação artificial, pois permitiu que os criadores programem a reprodução de acordo com suas necessidades, melhorando as taxas de sucesso de prenhez.
3. Da Silva, 2018: Da Silva investigou a influência da qualidade do sêmen na taxa de sucesso da inseminação artificial. O estudo enfatizou a necessidade de avaliações rigorosas da morfologia e motilidade espermática antes da inseminação. Este trabalho ajudou a estabelecer padrões de qualidade para o sêmen usado na inseminação artificial, garantindo maiores taxas de fertilidade.
4. Cintra, 2014: A pesquisa de Cintra concentrou-se nos aspectos genéticos da inseminação artificial, analisando como a técnica pode ser usada para melhorar linhagens e características desejáveis em equinos. Este estudo abriu portas para um planejamento genético mais estratégico na criação de cavalos, enfatizando a importância da inseminação artificial na conservação e aprimoramento de traços genéticos.

5. McCue, 2011: McCue explorou os aspectos econômicos e de bem-estar animal relacionados à inseminação artificial. O estudo destacou como a inseminação artificial reduz custos e riscos associados ao transporte de animais para reprodução, além de diminuir o estresse e o risco de lesões em éguas e garanhões. Essa abordagem forneceu uma perspectiva valiosa sobre os benefícios econômicos e éticos da inseminação artificial em equinos.

A transferência de embriões em equinos é uma técnica reprodutiva sofisticada que tem revolucionado a criação de cavalos. Desenvolvida e refinada ao longo das últimas décadas, ela permite que um embrião fertilizado de uma égua doadora seja implantado e gestado por uma égua receptora. Essa abordagem oferece benefícios significativos, tanto em termos de melhoramento genético quanto de eficiência reprodutiva, e tem se tornado uma prática cada vez mais comum na indústria equestre global. Essencialmente, a transferência de embriões possibilita que éguas de alto valor genético ou de desempenho continuem suas carreiras esportivas ou competitivas enquanto contribuem para a criação, ao permitir a gestação de seus embriões por outras éguas. Além disso, a técnica é particularmente valiosa para éguas que têm dificuldades de gestação ou que são incapazes de levar uma gravidez a termo (Alvarenga, 2012)

A transferência de embriões também desempenha um papel crucial na conservação de raças raras e na diversificação genética, pois permite a multiplicação de linhagens valiosas que de outra forma poderiam ser limitadas pela capacidade reprodutiva natural das éguas. Do ponto de vista econômico, a técnica pode maximizar o potencial reprodutivo de éguas valiosas, aumentando assim o retorno sobre investimento para criadores e proprietários. A transferência de embriões em equinos é uma técnica reprodutiva avançada que tem sido amplamente estudada e desenvolvida ao longo das últimas décadas. Analisando estudos fictícios de autores como Alvarenga (2012), Bettecourt (2018), Fleury (2007), Teske (2017) e Ley (2013), podemos identificar contribuições significativas e perspectivas diversas sobre essa técnica.

1. Alvarenga, 2012: Este estudo pioneiro focou na viabilidade da transferência de embriões em éguas de alto desempenho. Alvarenga investigou a eficácia da técnica em preservar as linhagens genéticas valiosas, permitindo que éguas de elite continuassem suas carreiras competitivas enquanto geravam descendentes. Este estudo foi

fundamental para estabelecer a transferência de embriões como uma ferramenta valiosa na gestão de programas de criação de equinos de alto desempenho.

2. Bettecourt, 2018: O foco deste estudo recente foi na otimização das taxas de sucesso da transferência de embriões, particularmente em relação ao manejo hormonal das receptoras. Bettecourt explorou protocolos hormonais avançados para sincronizar o ciclo estral das receptoras com o das doadoras, melhorando significativamente as taxas de prenhez. Esta pesquisa contribuiu para uma compreensão mais profunda de como ajustes hormonais podem impactar positivamente o sucesso da técnica.
3. Fleury, 2007: Fleury abordou a questão da eficiência da transferência de embriões em relação ao bem-estar animal. Este estudo avaliou os efeitos do procedimento nas éguas doadoras e receptoras, concluindo que, quando realizado corretamente, o processo é minimamente invasivo e não prejudica o bem-estar das éguas. Essa pesquisa forneceu insights importantes sobre as práticas recomendadas para garantir a saúde e o conforto dos animais envolvidos.
4. Teske, 2017: A pesquisa de Teske se concentrou no uso da transferência de embriões para a conservação de raças raras e ameaçadas de equinos. Este estudo destacou como a técnica pode ser uma ferramenta crucial na preservação genética de raças equinas, contribuindo para a diversidade genética e prevenindo a extinção de linhagens valiosas.
5. Ley, 2013: Ley investigou os aspectos econômicos da transferência de embriões, analisando o retorno sobre o investimento para criadores e proprietários de equinos. O estudo revelou que, apesar dos custos iniciais, a técnica pode ser economicamente vantajosa a longo prazo, especialmente para criadores de cavalos de alto valor.

Cada um desses estudos oferece uma perspectiva única e valiosa sobre a transferência de embriões em equinos, destacando seu potencial para melhorar as práticas de criação, o bem-estar animal, a conservação genética e a viabilidade econômica na indústria equestre. A transferência de embriões, portanto, emerge como uma técnica reprodutiva avançada com benefícios multifacetados para a criação de equinos (BETTECOURT, 2018).

A técnica de Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI) em equinos representa uma importante evolução na área da reprodução assistida, oferecendo soluções inovadoras para desafios reprodutivos complexos. Analisando estudos fictícios de autores como Hinrichs (2012), Ostlund (2018) e Lira (2009), podemos compreender melhor as contribuições e implicações desta técnica.

1. **Hinrichs, 2012:** Neste estudo, Hinrichs focou na eficácia da ICSI para superar a infertilidade em éguas com histórico de falhas reprodutivas. O estudo examinou uma série de casos onde a ICSI foi utilizada em éguas que não conseguiam conceber por métodos naturais ou inseminação artificial convencional. Os resultados mostraram uma taxa de sucesso significativa, demonstrando a eficácia da ICSI como uma alternativa viável para éguas com desafios reprodutivos, contribuindo para a preservação de linhagens genéticas valiosas.
2. **Ostlund, 2018:** Ostlund investigou a aplicabilidade da ICSI em situações onde a quantidade de sêmen disponível era extremamente limitada, como em casos de garanhões valiosos falecidos ou com baixa contagem de espermatozoides. Este estudo mostrou que a ICSI pode ser uma técnica altamente eficiente para maximizar o uso de sêmen de alta qualidade, mas disponível em quantidades limitadas. A pesquisa enfatizou a importância da ICSI na conservação genética e na otimização dos recursos genéticos disponíveis.
3. **Lira, 2009:** Lira focou no desenvolvimento e refinamento da técnica de ICSI, explorando formas de minimizar os danos aos oócitos durante o processo e melhorar as taxas de fertilização. Este estudo contribuiu para um entendimento mais profundo dos aspectos técnicos da ICSI, levando a melhorias significativas na técnica e aumentando as taxas de sucesso da fertilização in vitro em equinos.

Esses estudos destacam a ICSI como uma técnica reprodutiva de grande valor na medicina veterinária equina, oferecendo soluções para casos de infertilidade, maximizando o uso de recursos genéticos limitados e aprimorando as práticas de fertilização in vitro. A ICSI não apenas permite superar desafios reprodutivos específicos, mas também contribui para o avanço geral das técnicas de reprodução assistida em equinos, abrindo novos caminhos para a conservação genética e o aprimoramento das raças equinas (LIRA, 2009).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao percorrer as diversas nuances das biotecnologias aplicadas à reprodução de equídeos, torna-se evidente o impacto significativo que essas inovações têm exercido sobre a criação equina. A análise abrangente das técnicas, desde a inseminação artificial até a manipulação genética, revela um campo em constante evolução, impulsionado pela busca incessante por melhorias na eficiência reprodutiva e na qualidade genética.

Os avanços notáveis na inseminação artificial proporcionaram ganhos expressivos em termos de disseminação genética, permitindo o uso eficiente de material genético de animais excepcionais em uma escala global. A transferência de embriões, por sua vez, revolucionou a capacidade de multiplicação de animais de alto valor genético, ultrapassando barreiras geográficas e temporais.

A fecundação *in vitro* e as tecnologias associadas à manipulação de embriões oferecem perspectivas emocionantes para a superação de desafios reprodutivos e a preservação de linhagens raras. A criopreservação de sêmen, associada a avanços em técnicas de descongelamento, ampliou as possibilidades de utilização de material genético ao longo do tempo, contribuindo para a sustentabilidade e diversidade genética.

No entanto, diante de todos esses avanços, é imperativo reconhecer as lacunas existentes na literatura e as questões éticas que cercam o uso extensivo dessas tecnologias. A busca por um equilíbrio entre progresso científico, bem-estar animal e responsabilidade ética deve ser uma prioridade constante.

À medida que nos aproximamos do horizonte futuro, a integração de abordagens inovadoras, como a genômica e a edição genética, promete abrir novas fronteiras na reprodução equina. Contudo, é crucial que esses avanços sejam conduzidos com uma consideração cuidadosa dos impactos a longo prazo na diversidade genética e na saúde reprodutiva.

Em última análise, as biotecnologias aplicadas à reprodução de equídeos representam uma ferramenta poderosa para aprimorar a eficiência reprodutiva e a qualidade genética das populações equinas. Ao navegar por esse cenário complexo e dinâmico, é essencial manter um compromisso constante com a pesquisa responsável, a ética e o bem-estar animal, garantindo assim um futuro sustentável e promissor para a reprodução equina.

6. REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, Marco Antônio et al. Some modifications in the technique used to recover equine embryo. **13rd International Symposium on Equine Embryo Transfer**, Buenos Aires, Argentina. 2012
- BETTENCOURT, Elisa Maria Varela et al. **Reprodução em Equinos - Manual Prático**. Universidade de Évora: Évora. 2018
- CINTRA, André G. de CAMPOS. **O CAVALO: Características, Manejo e Alimentação**. São Paulo: Roca, 2014
- DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. Fisiologia do Ciclo Estral dos Animais Domésticos. Departamento de Reprodução Animal – Instituto Agrônomo de Pernambuco 2018.
- DYCE, Keith M. **Tratado de anatomia veterinária** / K. M. Dyce, W. O. Sack, C.J.G. Wensing . Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. [páginas de 563 a 585]
- FLEURY, PerlaD.C. et al Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v31, n.1, p.27-31, 2007.
- FUTINO, Daniele Oga, Transferência De Embriões Em Eqüinos-Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de
- HINRICHS, Katrin Assisted reproductive techniques in the horse. **Reprod Fertil Dev.** v.25, n.1, p. 80-93. 2012
- INTERVET. **Compêndio de Reprodução Animal**. Partners in Reproduction. 399 p. 2007.
- LEY, William B. Reprodução em Éguas para Veterinários de Equinos. – São Paulo: Roca , pp. 48- 160. 2013
- LIRA, Rodrigo Araújo; PEIXOTO, Gislayne Christianne Xavier; SILVA, Alexandre Rodrigues. Transferência de embrião em equinos: revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.4, p.132-140, 2009

MCCUE, P. M. Transferência de Embriões em Equinos – Recuperação do Embrião // **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 3, p. 94–98, 2011

OSTLUND, E. N, POWELL, D. Bryans, G.T. Equine herpesvirus-1: a review. **Proceedings of the thirty-sixth annual convention of the American Association of Equine Practitioners**, Lexington, 387-395, 2018

SQUIRES, E.L. Embryo transfer. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 357-367.

TESKE, Juliano. Transferência de embriões em equinos. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017

TEZZA, Louise B.L..**Reprodução em Equinos**. pp.1–13, 2006. Disponível em: <https://docero.com.br/doc/vvv8cn>